Microbiología Española

VOL. IV

N.º 2-3

MCMLI

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
28 MAR 1960

SUMARIO

Páginas

CONFERENCIAS Y COMUNICACIONES

La paja de cereales como materia prima para la fabricación de levaduras pienso, por **Ernesto Martínez Díez** ... 77

Estudio de la actividad de mezclas de antibióticos y quimioterápicos, por **Rafael Ibáñez** y **Gabriel Megías** ... 85

Procesos químicos y microbiológicos en la fermentación de las aceitunas sevillanas, por **Miguel Martínez, Miguel Romero** y **Lorenzo Monzón** 103

Nuevos síntomas en el Dock Mosaic causados por el Rumex Virus 1, por **Félix Martínez Cordón** 109

INFORMACION

Nuevo representante español en la A. I. M. 115

VI Congreso Internacional de Patología Comparada ... 115

II Congreso Internacional de Bioquímica 116

Actas de la Sociedad 116

BIBLIOGRAFIA

Indice de artículos de revistas 119

SE SUPLICA EL CAMBIO
ON PRIE L'ECHANGE
AUSTAUSCH ERBETEN
EXCHANGE DESIRED

TODA LA CORRESPONDENCIA DEBE DIRIGIRSE A
MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA
SERRANO, 113 - MADRID - (ESPAÑA)

Número suelto: 22 pesetas. Suscripción anual (4 números): 80 pesetas.

Microbiología Española

publicada por el Instituto «Jaime Ferrán»
de Microbiología del C. S. I. C. y la Sociedad
de Microbiólogos Españoles

VOL. IV

N.º 2-3

MCMLI

Gráficas **TEJARIO, S. A.** Pza. del Biombo, 4-Tel. 22 12 88-Madrid

INSTITUTO "JAIME FERRAN", DE MICROBIOLOGIA
C. S. I. C.

LA PAJA DE CEREALES COMO MATERIA PRIMA PARA LA FABRICACION DE LEVADURAS PIENSO

Ernesto Martínez Díez.

ANTECEDENTES E IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

Numerosos trabajos se han realizado en nuestra Patria con el fin de encontrar materias primas abundantes en nuestro suelo y aptas para elaborar caldos de multiplicación para las tan ya conocidas levaduras pienso y otras especies afines.

Ya se han estudiado numerosas materias primas, tales como los tubérculos de patata, rizomas tuberosas de gamones, etc., e incluso el aprovechamiento de ciertos subproductos tales como las levaduras residuales existentes en las heces de los vinos, alpechines resultantes de la fabricación de aceite de oliva, etc.

De la importancia actual que tales estudios pueden suponer, basta que hagamos referencia a algunos puntos que refería nuestro Maestro e ilustre Ingeniero Agrónomo don Juan Marcilla (q. e. p. d.) en el Congreso de Ingeniería Agronómica que se celebró en nuestra capital en la primavera del año 1950.

1.º Las levaduras alimenticias y otras especies afines constituyen un magnífico complemento a las raciones, ya que poseen gran cantidad de proteínas (del 30 al 40 %) de un alto valor fisiológico, digestibles en el 80-85 %, muy ricas en vitaminas del grupo B y en otros microfactores esenciales. El índice mineral es francamente aceptable por la alta proporción de ácidos fosfóricos.

2.º Dada la escasez de alimentos nitrogenados, no parece difícil encontrar en plazo breve mercado nacional para 1.400 toneladas anuales de preparados de levaduras destinadas a la dietética y alimentación humana, y un mínimo de 18.000 toneladas para alimentación del ganado, y

3.º Entre las iniciativas de mejora de piensos, merece especial atención la que se orienta hacia la deslignificación de las pajas, y, sobre todo, si las lejías alcalinas resultantes pueden servir como caldos de proliferación de levaduras pienso.

Es a este tercer punto al que se refiere el trabajo presente, y cuya orientación consistió en:

Partir de «la materia prima paja de trigo; extraer de ella (previo ataque por una lejía alcalina) un caldo adecuado que, acondicionado previamente, sirva para multiplicar la especie utilizada como «levadura pienso» la más apta para este medio y no olvidando que en este estudio buscábamos un mínimo coste para la obtención del medio de cultivo y una máxima producción de cosecha.

Por lo últimamente expuesto, y al objeto de seguir un orden en el trabajo, consideramos los siguientes apartados:

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación del medio de cultivo y desecación de las pajas tratadas.

De las lejías utilizadas para la deslignificación de pajas (lejías al carbonato, sosa, sulfito, bisulfito, cal) se decidió trabajar con la lejía de cal por resultar la más económica en nuestra Patria, y, a su vez, proporcionarnos un caldo que no difería sensiblemente de los obtenidos con otros álcalis.

A continuación se estudiaron las dosis mínimas de cal suficiente para que los caldos extraídos de la paja contuviesen la máxima cantidad de extracto seco, operando del modo siguiente:

La paja de trigo, cortada a unos 2-3 cms., es sometida a una maceración en frío con lejías de cal (desde el 0,6 % al 1,5 % durante veinticuatro horas, y re-

CUADRO NUM. 1

Lejía de cal	Materia seca (en 25 c. c.)	Mat. seca %
1,5 %	0,3832 gramos.	1,5328
1 %	0,3804 "	1,5216
0,9 %	0,3824 "	1,5296
0,8 %	0,3842 "	1,5368

sultó, como puede apreciarse en el cuadro núm. 1, que el caldo procedente de la lejía al 0,8 % era el que reunía mayor cantidad de extracto seco (1,537 %), y los procedentes del tratamiento con lejía más concentrada daban un % de materia seca que oscilaba entre límites poco amplios, pero inferiores a la cantidad señalada.

Como datos complementarios diremos: que la lejía se preparó agregando la cal sobre agua a temperaturas de 60-70°; que la relación de paja (peso) a lejía (volumen) es de 1 a 8; que el rendimiento en caldo viene a ser de un 75 % del

volumen de la lejía empleada, de los cuales un 55 % se obtuvo por escurrimiento libre y el resto sometiendo la paja ya agotada a la acción de una prensa de laboratorio.

Ya tenemos, pues, por un lado, un caldo de deslignificación que, para evitar posibles contaminaciones, debe ser llevado a pH-1 por la adición de sulfúrico, y, por otro lado, una «paja acondicionada» (que fué estudiada, y cuyos resultados expuso el propio Marcilla), pero que interesa desecarla para evitar su futura descomposición. Por esta causa se realizaron una serie de:

Ensayos de desecación bajo la acción de lámparas de infrarrojo.—Este nuevo método de desecación es posible tenga en un futuro próximo aplicaciones numerosas en las variadas industrias agrícolas que requieren en uno de sus procesos la desecación de determinados productos.

Basta tener presentes las pruebas de desecación llevadas a cabo con las pajas acondicionadas y recién extraídas de la maceración anteriormente citada. Para ello se colocó este producto bajo la acción de una lámpara de infrarrojo de

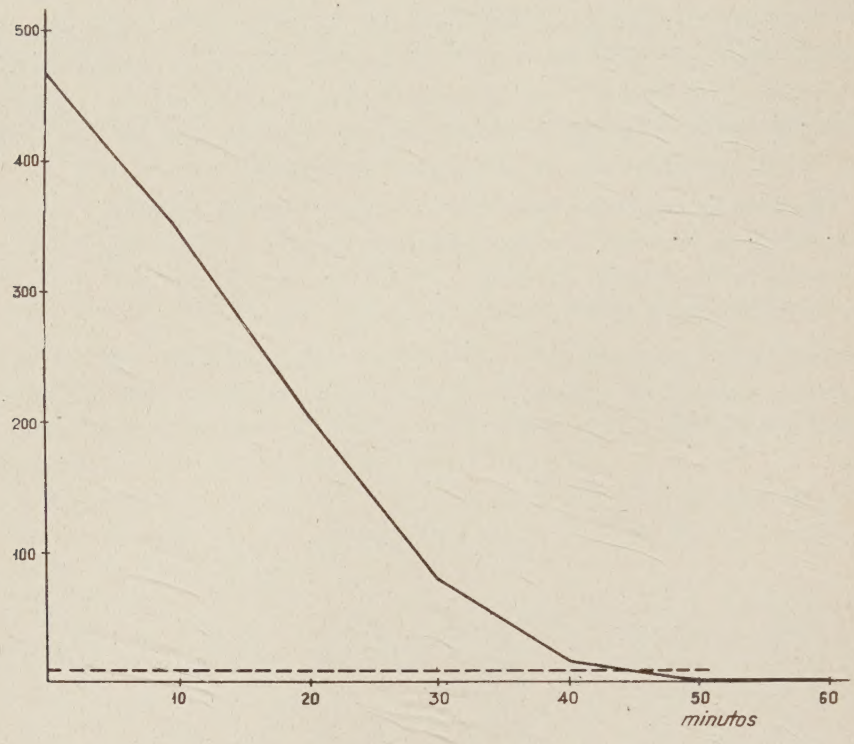
CUADRO NUM. 2

Tiempo transc.	Temperatura máxima	(1) Peso de cap. y paja (gs.)	Pérdida de peso (gs.)	(2) (1) — a	(3) $\frac{(2)}{b} \times 100$
0'	21°	93,06		16,03	478
10'	68°	89,08	3,98	12,05	358
20'	85°	83,985	6,095	6,095	207
30'	90°	79,65	4,335	2,62	78
40'	100°	77,65	2,000	0,62	19
50'	105°	77,05	0,60	0,02	0,6
60'	115°	77,020	0,03	0,01	— 0,3

Nota: a = Peso de la cápsula y materia seca de la paja = 77,030 gramos.
b = Materia seca de la paja = 3,365 gramos.

250 watios y a unos 25 cms. de distancia del foco energético. En el cuadro número 2 puede verse una de las pruebas realizadas, en la que se estudiaron con arreglo a los tiempos transcurridos las temperaturas máximas alcanzadas y el % de humedad. Con estos datos construímos una gráfica, tomando en abcisas el tiempo de exposición, y en ordenadas la humedad en relación a 100 partes de materia seca; deduciendo que en las condiciones de la experiencia, el tiempo que necesitamos para llevar la paja a su estado normal de humedad (5-8 %) resultó

ser de unos cuarenta-cincuenta minutos, y en ese intervalo se desprendieron casi cinco veces el peso propio de agua.



Métodos analíticos y análisis del medio de cultivo.

Solamente indicaremos los métodos seguidos en el análisis del caldo y algunas consideraciones sobre los resultados obtenidos.

Para la determinación del nitrógeno total se siguió el micrométodo Kjeldahl-Michaelis; para la del nitrógeno aminoácido (expresado en número de formol), el método de Sörensen; los azúcares reductores se determinaron por el método Bertrand-Kjeldahl; para los acetilos, el desplazamiento de éstos por otro más fuerte (ácido fosfórico), y los ácidos urónicos por el método de Dickson, Otterson y Link.

CUADRO NUM. 3

Materia seca	15,36 g. por litro
Cenizas	5,15 g. por litro
Azúcares reductores después de inversión, y expresado en glucosa	7,82 g. por litro
Acetilos (expresado en acético)	4,59 g. por litro
Urónicos (xilo urónicos)	2,97 g. por litro
Nitrógeno total	0,355 g. por litro
Proteína bruta	2,22 g. por litro
Número de formol	0,36 g. por litro

Los resultados obtenidos figuran en el cuadro número 3, y demuestran que los caldos de deslignificación son relativamentee pobres en principios ternarios, y más aún en los nitrogenados y fosforados. Por esta causa necesitamos acondicionarlos en tales compuestos y en cantidades convenientes, que se deducirán de consideraciones sucesivas.

Estudios de la especie adecuada al medio.

Se realizaron ensayos con las especies:

Torulopsis utilis,
Torulopsis liquefaciens, y
Oidium lactis,

que eran, según estudios realizados anteriormente, las más adecuadas para su multiplicación en este medio de cultivo, y considerando el fin que perseguíamos.

CUADRO NUM. 4

COSECHAS OBTENIDAS, EXPRESADAS EN GRAMOS DE MATERIA SECA POR LITRO DE MEDIO

Experiencias número	Tiempo transcurido desde siembra	Especies		
		O. L.	T. U.	T. L.
1	4 días	0,7222	0,5937	0,6413
2	4 días	0,7321	0,5413	0,6908
3	4 días	0,7193	0,6012	0,6893

En el cuadro número 4 pueden verse, después de multiplicadas en condiciones análogas, las cosechas obtenidas de cada una de las especies citadas, en proliferaciones reiteradas. Las máximas cosechas han correspondido a

Oidium lactis, siguiéndole Torulopsis liquefaciens, y ambas destacadas de T. utilis.

Pero, aún es más, si consideramos el resultado de los análisis de O. Lactis y T. liquefaciens, que figuran en el cuadro número 5, apreciamos que

CUADRO NUM. 5

Oidium lactis ...	Materia seca	83,53 %
	Proteína bruta	39,54 %
	Grasas	3,15 %
Torulopsis liquefaciens (según datos facilitados)	Materia seca	81,3 %
	Cenizas	10,02 %
	Proteína bruta	37,73 %
	Grasas	6,26 %

también la especie O. lactis, con 39,5 % de proteínas, es más rica que T. liquefaciens, que solamente contiene el 37,7 % del citado principio inmediato.

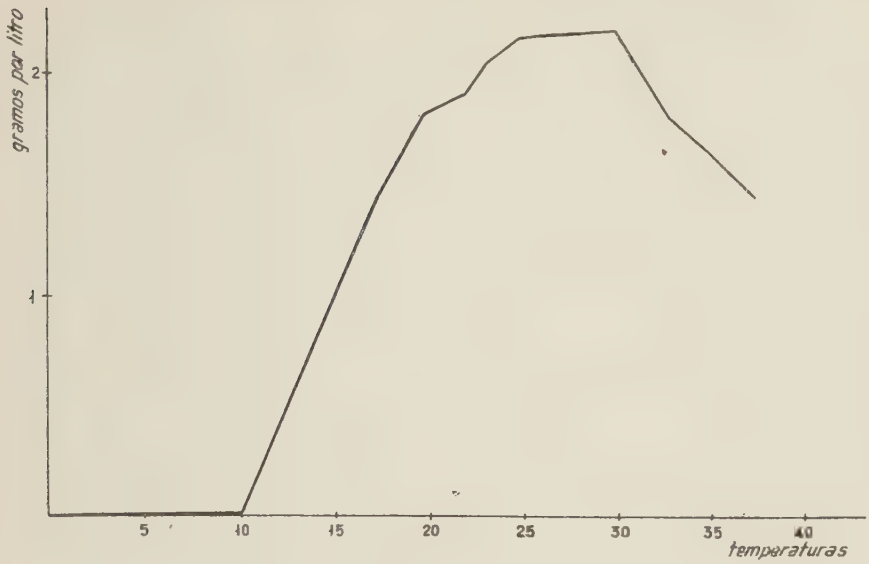
En consecuencia, los sucesivos estudios que se realizaron en este trabajo se limitaron a la especie O. lactis.

Influencia de los factores: Temperatura, pH, número de formol y ácido fosfórico.

Los resultados obtenidos respecto al factor temperatura figuran en el cuadro número 6 y gráfico número 2. En ellos constan las cosechas obtenidas en días

CUADRO NUM. 6

Temperaturas	Cosechas de O. L. (expresadas en g. l^{-1}) conseguidas al cabo de:		
	Tres días	Cuatro días	Cinco días
6°	0,00	0,00	0.012
10°	0,00	0,00	0,033
17°	0,006	0,127	1,44
20°	0,007	0,162	1,81
22°	0,008	0,19	1,88
23°	0,011	0,21	2,03
25°	0,012	0,22	2,15
27°	0,011	0,25	2,17
30,5°	0,012	0,19	2,18
33°	0,008	0,17	1,81
35°	0,009	0,16	1,62
37°	0,006	0,16	1,44



sucesivos, con muestras análogas colocadas a temperaturas constantes que oscilaban entre los 6 y los 37°.

Del análisis del gráfico deducimos lo siguiente:

1.° Que la temperatura mínima de multiplicación está comprendida entre los 6-10° C.

2.° Que la óptima oscila en el intervalo desde 27,5 a 31° C, y

3.° No hay oscilaciones muy sensibles entre las multiplicaciones a temparaturas en el intervalo 23-31° C, y, por tanto, pensando en una posible aplicación industrial de este trabajo; las experiencias sucesivas se han conducido a temperaturas comprendidas entre los 23-25° C.

En relación a la influencia del pH se hicieron una serie de ensayos que se recogen en el cuadro número 7, y de cuyo análisis se llega a la conclusión que

CUADRO NUM. 7

pH	Primer día	Segundo día	Tercer día
2	Nulo	Nulo	Nulo
3	Nulo	Se aprecia	Mediano
4	Se aprecia	Bueno	Muy bueno
5	Se aprecia	Intensa proliferación	Muy bueno
6	Se aprecia	Mediano	Bueno
7	Nulo	Nulo	Se aprecia
8	Nulo	Nulo	Se aprecia

el pH óptimo para la multiplicación de O. lactis está comprendido entre 4 y 5, aunque la multiplicación se continúe para valores de pH que tiendan hacia la alcalinidad.

Influencia del número formol.—Al tratar del análisis de los caldos, hemos visto que éstos poseían una cantidad pequeña de nitrógeno asimilable que, referida a número formol, viene a ser de 0,3 a 0,4. En vista de ello, se prepararon una serie de muestras acondicionadas con SO_4 $(NH_4)_2$ y de tal modo que su número de formol oscilase desde 0,8 a 3,2. Los resultados de esta ex-

CUADRO NUM. 8

Núm. formol al comienzo	Idem final	(1) consumido	(2) mater. seca (en g. l^{-1})	(2) / (1)
0,8	0,2	0,6	1,402	2,33
1	0,3	0,7	1,584	2,26
1,5	0,65	0,85	1,955	2,03
1,8	0,9	0,9	2,171	2,41
2	1	1	2,290	2,28
2,2	1,45	0,75	1,304	1,8
2,6	1,5	1,1	2,550	2,31
3,2	2,05	1,15	2,598	2,25

periencia figuran en el cuadro número 8, y se observan: 1.º, correlaciones positivas entre el número de formol inicial y el consumido (0,6-1,2), así como entre el consumido y la materia seca de cosecha, que oscila entre 1,4 y 2,6 gramos por 1, y 2.º, como era lógico suponer, la relación de cosecha a formol consumido osciló entre límites poco amplios (2,05 a 2,30).

En cuanto al fósforo, y por consideraciones análogas a las del N., se hizo una escala de muestras con aportaciones de fosfato potásico desde 0,2 hasta

CUADRO NUM. 9

Muestras	Fosfato potásico en g. l^{-1}	Materia seca en g. l^{-1}
1	0,2	1,0031
2	0,4	1,5732
3	0,6	2,2019
4	0,8	2,7118
5	1	2,8831
6	1,2	2,9132
7	1,3	2,9335

1,3 g. l., y, como puede verse en el cuadro número 9, existe igualmente una correlación positiva entre el fosfato potásico añadido y las cosechas finales, que oscilan desde 1 a 2,9 g. l.

Rendimientos obtenidos con aireación forzada.—Las pruebas se llevaron a cabo, con dispositivos montados para tal fin, en el Instituto de Microbiología. Indicaremos brevemente la esencia del aparato:

El aire procedente de un compresor se esteriliza en su recorrido al pasar a través de una serie de matraces que contienen dicromato potásico y seguidamente sufre una nebulización, en el interior del caldo de multiplicación, al salir éste a través de placas porosas o de tubos capilares.

Los ensayos efectuados han perseguido dos finalidades determinadas:

1.ª Conseguir llegar al rendimiento máximo posible.

2.ª Estudio de la marcha de la multiplicación.

1.º El estudio del máximo rendimiento se hizo bajo determinadas condiciones, y se prueba en el cuadro número 10 que al cabo de treinta y cuatro

CUADRO NUM. 10

COSECHAS EN G. DE MATERIA SECA L^{-1} EN MUESTRAS TOMADAS SIMULTÁNEAMENTE DESPUÉS DE

30 minut.	20 h.	24 h.	26 h.	30 h.	33 h.	34 h.
0,480	2,4152	3,5497	4,5275	5,5214	8,324	8,572
0,512	2,2349	3,5314	4,3755	5,5214	8,412	8,643

horas de proliferación se obtenía la cosecha máxima, resultando ser de unos 8,6 gr. l.

2.º La marcha de la multiplicación se ha estudiado partiendo de un caldo nuevo, al que se agregó una masa fresca de O. lactis, obtenida separadamente. Colocado en el dispositivo de aireación forzada, se han tomado de él una serie de muestras a intervalos diferentes, y para cada uno se ha determinado la materia seca de O. lactis, el número de formol, pH, acetilos y los azúcares reductores. Los resultados de estos análisis figuran en el cuadro número 11, y con él se han construído tres gráficas: la de multiplicación, consumo de acetilos y consumo de azúcares.

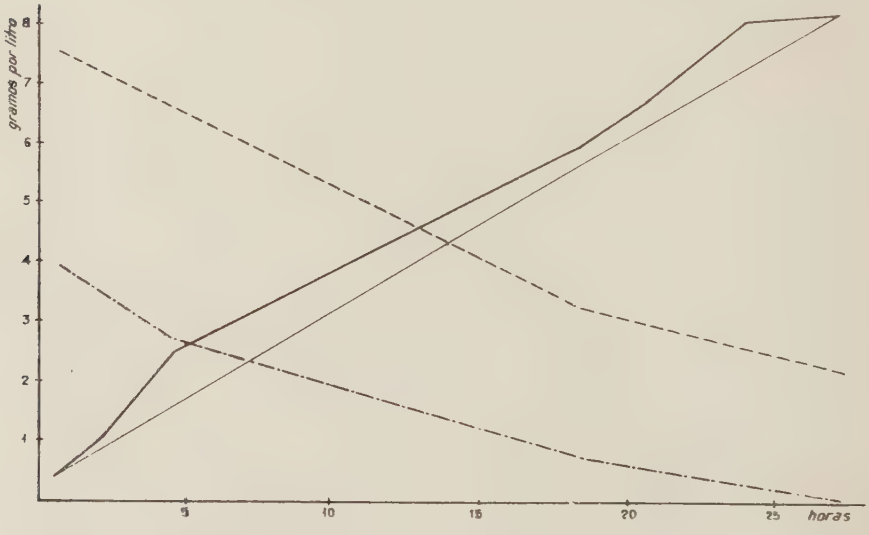
CUADRO NUM. 11

Muestra	Hora de toma	Tiempo transc.	Materia seca en g. l^{-1}	Núm. de formol	Ph	Acet.	Azúcar
1	16 h. 30 m.	30 m.	0,357	2,5	4,5	4,23	7,50
2	19 h. 18 m.	3 h. 18 m.	1,037	2,1	5	—	—
3	20 h. 45 m.	4 h. 45 m.	2,451	1,4	5,5	2,7	—
4	10 h. 30 m.	18 h. 30 m.	5,834	0,3 A	7,5	1,01	3,41
5	12 h. 45 m.	20 h. 45 m.	6,479	1,4	6	0,14	—
6	13 h. 30 m.	21 h. 30 m.	6,983	1	6,5	—	—
7	16 h.	24 h.	7,950	0,5	7	—	—
8	19 h. 15 m.	27 h. 15 m.	8,404	0,25	7,5	—	2,39

La de multiplicación nos indica que ésta es más intensa en el transcurso de las cuatro primeras horas y, además, que el aumento horario en materia seca ha sido, aproximadamente, de 0,4 g. l.

La de consumo de acetilos nos demuestra, al igual, que el consumo fué máximo en las cuatro primeras horas y que al cabo de trece horas de experiencia éstos habían sido virtualmente asimilados por O. lactis.

La de consumo de azúcares manifiesta que la asimilación de estos elementos no sigue igual ritmo a la de acetilos, y al final de la experiencia (al cabo de veintisiete horas) quedaron unos 2,39 g. por l. de azúcares reductores, que no



Línea de trazo continuo: materia seca en gramos por litros.
Línea de punto y raya: acetilos en gramos por litro.
Línea de rayas: azúcares y gramos por litro.

fueron asimilados por la especie estudiada, a pesar de no continuarse la multiplicación por estar agotado el medio en principios ternarios asimilables por la especie.

La cosecha obtenida en esta experiencia resultó ser de unos 8,4 g. de materia seca por litro de medio, partiendo de unos 0,37 y al cabo de veintisiete horas de aireación.

Conclusiones generales.

En consecuencia, las orientaciones que podrán servir de referencia para el aprovechamiento de las lejías de deslignificación de pajas de cereales, para ser utilizado como medio de cultivo para la multiplicación de levaduras pienso o especies afines, podrán ser:

1.º A base de caldos de paja, obtenidos por el tratamiento con lejía de cal al 0,8 por 100 y en frío.

2.º Utilizando como especie a multiplicar el O. lactis.

3.º El acondicionamiento de estos caldos se efectuará:

a) Adicionando compuestos nitrogenados minerales (sulfato amónico, por ejemplo) y en tal cuantía que corresponda a un consumo total de tres a cuatro unidades, expresadas en número de formol.

b) Agregando compuestos a base de fósforo, tales como el fosfato potásico o superfosfato, a razón de dos a tres g. por litro.

4.º Las condiciones más apropiadas para favorecer la multiplicación serán:

a) Mantener el medio de cultivo, y a ser posible entre valores de pH comprendidos entre 4 y 5.

b) Se conducirá a temperaturas que oscilarán entre los 23 y 31º.

c) Aireación forzada en el seno del líquido, al objeto de proporcionar al conjunto del medio las mejores condiciones de aerobiosis.

5.º Respecto a rendimientos, están en consonancia con la pequeña cantidad de compuestos ternarios existentes en las lejías de deslignificación, y sólo podrán esperarse cosechas máximas de unos 8,5 kg. por metro cúbico de caldo empleado.

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD DE MEZCLAS DE ANTIBIOTICOS Y QUIMIOTERAPICOS

I) ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO

Rafael Ibáñez y Gabriel Megías.

INTRODUCCION

Aparte el intensivo trabajo que se lleva a cabo en todo el mundo para el descubrimiento de nuevos antibióticos y quimioterápicos, se está dedicando también en estos últimos años un considerable esfuerzo a investigar la posibilidad de combinar los antibióticos entre sí o con otros agentes antibacterianos con objeto de conseguir remedios aún más eficaces para las enfermedades infecciosas. Se persigue con estos estudios un triple objetivo: 1) Actuar de forma más efectiva y enérgica sobre el agente causal; 2) Prevenir el desarrollo de variantes resistentes de los microorganismos; 3) Extender el espectro antimicrobiano. A estos objetivos nosotros hemos añadido uno más, que hasta ahora no se había tenido en cuenta: Actuar sobre el organismo del huésped por la vía de la acción antihistamínica.

A priori puede pensarse que si un agente infeccioso es susceptible a varios antibióticos o quimioterápicos, admitiendo que éstos actúan sobre diferentes sistemas encimáticos vitales, una combinación de los mismos debería ser más eficaz que cada uno de ellos solo. Pero esto no siempre es verdad. En efecto, se sabe hoy que estas combinaciones pueden dar uno de estos tres resultados: 1) Sumación de efectos; 2) Potenciación o sinergismo; 3) Antagonismo.

Numerosos trabajos publicados en estos últimos años muestran resultados sinérgicos in vitro o in vivo de varias combinaciones sobre diversos microorganismos: Así la combinación penicilina + sulfatiazol es sinérgica para el E. tiphi (1) (2), y en la clínica esta misma combinación dió resultados favorables en el tratamiento de la fiebre tifoidea y de portadores (3). La mezcla penicilina + sulfamida ha sido encontrada sinérgica frente al estrep-

tococo viridans (4) y contra los microorganismos Gram negativos, en general (5). También resulta sinérgica la mezcla de gramicidina y penicilina (6) y de penicilina + tirotricina (7) para los estreptococos y estafilococos, y la combinación de penicilina y estreptomicina frente a los mismos microorganismos (8) y también para el enterococo (9). Esta última mezcla (penicilina + estreptomicina), así como la de estreptomicina y sulfadiacina y, especialmente, estreptomicina + penicilina + sulfadiacina, muestran fuerte sinergia para numerosas bacterias Gram negativas, en el siguiente orden de sensibilidad decreciente: Brucella, Alcalígenes, Eberthella, Salmonella, Proteus, Shigella, Escherichia, Aerogenes, Klepsiella y Pseudomonas (10).

Varios trabajos se han destinado a estudiar la acción de diversas mezclas de antibióticos o de antibióticos y quimioterápicos sobre el género Brucella, porque si bien muchos de ellos individualmente muestran gran actividad in vitro frente a estos microorganismos y también en la clínica han dado resultados buenos en general, sin embargo ocurren recaídas frecuentes. Pulaski y Amspacher (11) fueron los primeros en proponer el tratamiento de la brucelosis con estreptomicina y sulfadiacina, lográndose mejores resultados que con cada una de las drogas independientemente (12) (13). Posteriormente se propuso el empleo combinado de la aureomicina y dihidroestreptomicina y de terramicina + dihidroestreptomicina (14) (15), al parecer con buenos resultados, reveladores de efectos sinérgicos, como se ha demostrado experimentalmente en ratones (16) (17). Por el contrario, Werner y Knight encuentran que la asociación de la estreptomicina y sulfadiacina no tiene ningún efecto sobre la infección experimental en el ratón. También se ha demostrado sinergismo entre la penicilina y bacitracina en la sífilis experimental del conejo (18).

Efectos antagónicos entre los antibióticos, entre éstos y los quimioterápicos y entre varios de estos últimos han sido demostrados por muchos autores. Así la creencia generalmente admitida de que las mezclas de sulfamidas presentan una actividad antibacteriana mayor que cada una de ellas usada individualmente, fundándose en una hipotética potenciación entre las mismas, es cierta frente a unos gérmenes, pero no contra todos. Tal efecto sinérgico se observa con frecuencia frente a los cocos (19) (20) (21), pero Scheweinburg y Rutenburg (22) han encontrado entre los gérmenes ensayados un 27 por 100 de cocos Gram positivos y un 95 por 100 de bacilos Gram negativos, que fueron menos sensibles a las mezclas que a las sulfamidas individuales, y establecen que ciertas razas de una dada especie bacteriana pueden mostrarse menos, igual o más susceptibles a las mezclas que a sus componentes, comparando peso a peso, de manera que, en opinión de estos autores, sería necesaria una determinación en cada caso particular.

Respecto a los antibióticos existen numerosos casos de antagonismo. Así se

ha demostrado que el cloramfenicol antagoniza a la penicilina *in vitro* o *in vivo* (23) (24); lo mismo acontece con la aureomicina y la terramicina, respectivamente, con la penicilina (25).

Price y colab. (26) han realizado estudios de varias mezclas frente al *E. tiphi in vitro e in vivo*, empleando, en combinaciones dos a dos, los siguientes antibióticos y quimioterápicos: penicilina, estreptomicina, aureomicina, cloramfenicol, polimixina B., bacitracina, sulfatiazol, sulfadiacina y sulfameracina, estas tres en combinación con los antibióticos solamente. Los resultados han sido los siguientes: 1) No existe más que un 50 por 100 de correlación entre el sinergismo demostrado *in vitro* con el demostrado *in vivo*. 2) La acción sinérgica se manifiesta cuando se combinan determinadas proporciones de las drogas, pudiendo determinar, cuando no están en la adecuada proporción, efectos antagónicos. Existe, pues, un óptimo cualitativo y un óptimo cuantitativo en estas combinaciones. Así ocurre con la penicilina y estreptomicina, penicilina y sulfadiacina, sulfatiazol y penicilina, etc., e incluso cuando se producen efectos antagónicos, como ocurre con la penicilina y polimixina, aquéllos son más intensos en determinadas proporciones de las dos drogas, antagonismo que en ningún caso se acompañó de destrucción de las drogas mezcladas.

Respecto a la falta de correlación absoluta entre los resultados obtenidos *in vitro e in vivo*, cosa que ya se conocía en relación con las drogas empleadas individualmente (27), Price y colab. (26) han visto que la penicilina y el cloramfenicol, mezclados respectivamente con una sulfamida cada uno, mostraron sinergismo por el método de protección al ratón y solamente efecto aditivo en la prueba *in vitro*, mientras que mezclas de penicilina y polimixina y estreptomicina y polimixina mostraron antagonismo *in vivo*, siendo, por el contrario, sinérgicas *in vitro*. Por otra parte se ha demostrado también falta de correlación entre los resultados de la protección experimental y los obtenidos en clínica con numerosos antibióticos y quimioterápicos individuales. Así, por ejemplo, los ratones infectados con neumococos responden mal al cloramfenicol (28) y, sin embargo, este antibiótico parece dar excelentes resultados en el tratamiento de la neumonía en el hombre (29). Lo mismo sucede con la tularemia (30) y con las brucelosis (17). Siendo esto así, es natural que ocurra algo similar con las mezclas de quimioterápicos, en las que se suma un factor nuevo dependiente de los distintos ritmos de absorción y eliminación de los componentes. En suma, se comprende la complejidad del problema y las dificultades que presenta, no sólo basar en un método *in vitro* la eficacia clínica de las mezclas, sino ni siquiera trasladar directamente, sin los pertinentes estudios de correlación, los resultados experimentales en el animal al tratamiento de las infecciones humanas.

Por lo que se refiere al segundo objetivo, esto es, a la prevención del desarrollo de resistencia bacteriana, la utilización de las combinaciones de quimio-

terápicos se funda en la diferente forma de actuar de estos agentes. En efecto, si la resistencia es debida a la capacidad del microorganismo para desarrollar una alternativa encimática para el mismo proceso metabólico, con toda probabilidad, la administración simultánea de dos o más agentes que difieren en su modo de acción, reducirán al mínimo la contingencia, tanto si la resistencia se produce por la acción directa del antibiótico (adaptación) como si es el resultado de mutaciones preexistentes en una población microbiana y posterior selección, según se tiende a admitir actualmente (31). Así se ha demostrado *in vitro* que la adición de una dosis ineficaz de PAS a la estreptomicina retarda o previene el desarrollo de resistencia del *M. tuberculosis* (32), y lo mismo ocurre con la combinación «Promin» y estreptomicina y «Promin», PAS y estreptomicina (33). Además se demostró que la primera de las combinaciones citadas (PAS y estreptomicina) es más efectiva frente al B. tuberculoso que la estreptomicina sola, tanto *in vitro* (34) como *in vivo* (35). Hobby y colaboradores (36) encontraron que una mezcla de 56 por 100 de estreptomicina y 44 por 100 de PAS tenía una eficacia doble que la manifestada por una cantidad equivalente de estreptomicina sola, no habiendo aparecido resistencia, no obstante haberse demostrado razas resistentes al PAS en enfermos que han recibido medicación prolongada (37). Y, por otra parte, han fracasado los intentos de aislar razas estreptomicino-resistentes o PAS-resistentes de cultivos repetidamente expuestos a la mezcla de las dos drogas (38).

Es interesante el hecho demostrado por Vennesland y colab. (38) que la mezcla dihidro-estreptomicina + PAS en iguales proporciones que la combinación química dihidro-estreptomicina-PAS (1 mol + 3 MOL) no desarrolla resistencia, en tanto que con la combinación química citada emergen rápidamente formas resistentes, no solamente al compuesto, sino a cada uno de sus componentes individuales. La mezcla, además, es más activa que la combinación química, lo que contrasta con el comportamiento de otras combinaciones químicas de antibióticos como la denominada *aureotracina*, combinación de aureomicina y bacitracina, cuyas acciones parecen sumarse, incluso en su espectro antibacteriano, en el nuevo compuesto formado, con la ventaja de que pierde toxicidad (39). Estos datos revelan la posibilidad de que algunas de las mezclas ensayadas sean verdaderas combinaciones químicas, que pueden ser más o menos activas que los componentes individuales y, por lo tanto, constituye un factor más que complica el problema.

Trabajos anteriores realizados en este laboratorio (40 y 41) habían demostrado la actividad antibacteriana de un amino-alcohol con propiedades antihistamínicas (42) (43) denominado AH_1, sintetizado en este Instituto (44), acción bactericida especialmente marcada para determinados grupos de microorganismos, precisamente aquellos que, como el *Brucella* y el *H. pertussis*, producen infecciones con las que se desarrolla un complejo alérgico indiscutible

o inducen ciertas lesiones, como las de la f. tifoidea (úlceras faríngeas e intestinales), que se explican actualmente como una modalidad de alergia. Pensamos, pues, que la asociación de este preparado a otros antibióticos y quimioterápicos podría tener interés no sólo teórico, sino práctico.

Como, por otra parte, son numerosísimas las combinaciones que pueden hacerse con tres componentes en sus proporciones recíprocas, hemos orientado la investigación en el sentido de reducir al máximo la proporción de cloramfenicol en las mezclas. Las experiencias se han orientado, por ahora, hacia tres grupos de gérmenes: Tífico, Brucella y Pertussis.

MATERIAL Y METODOS

Antibióticos y quimioterápicos empleados:

Cloramfenicol.—Se utilizó un cloramfenicol (clorofenicina) cuya actividad, así como sus características físicas y químicas, son idénticas al cloramfenicol americano. (Punto de fusión: 152-153° C; poder rotatorio: — 20°.)

Dihidroestreptomicina (sulfato).—Se empleó la fabricada por la Casa Schenley, envasada en España por Antibióticos, S. A. Presenta la potencia declarada (760 mcg./mg.).

AH_1.—Se trata del anilin-bencil-dietilaminopropanol, cuyos caracteres físicos y químicos han sido expuestos anteriormente (40 y 44). (Punto de fusión: 77° C.)

Sulfatiazol.—Del comercio, con las características analíticas correspondientes. (Punto de fusión: 203° C.)

Sulfadiacina.—Del comercio, con las características analíticas correspondientes. (Punto de fusión: 258° C.)

Microorganismos.

En experiencias preliminares se probaron dos razas de *E. tiphi*, recientemente aisladas, denominadas Tífico Victoria y Tífico Málaga (este último obtenido de la epidemia de Málaga) y dos razas internacionales, Ty-2 y Vi-1. Los resultados obtenidos parecen similares, por lo que se eligió la raza Ty-2 como germen de prueba para los *Eberthella*. También se han probado varias razas de *Brucella*, *B. melitensis*-NCTC-4493 y 7493, *B. abortus*-NCTC-7471 y 7472 y *B. abortus* número 19, así como las de nuestra colección denominadas Bang 1 y Bang 2. Se seleccionó la raza *B. abortus*-NCTC-7471.

De *Hæmophilus pertussis* se ensayaron las siguientes razas: *H. pertussis*-S, *H. pertussis*-1627 (aislada por North de Australia), *H. pertussis*-B y *H. pertussis*-I de nuestra colección, las cua-

les, salvo la S, que se encuentra algo pasada de fase, a juzgar por el título de aglutinación con el suero específico, las otras se encuentran en fase I de Leslie y Gaertner. Se seleccionó la raza H. pertussis-I como germen de prueba.

Medio de cultivo.

Para los géneros Eberthella y Brucella se empleó el mismo medio de cultivo: caldo común sin ninguna substancia neutralizante de las antisulfamidas. Se hizo así siguiendo la experiencia de Schweinburg y Rutenburg (22), según la cual dosis altas de sulfamidas del orden de 250 mg./100 c. c. y menos son antibacterianas, aun en presencia de antisulfamidas, si los gérmenes son sensibles a estos quimioterápicos; si no lo son, las dosis serán superiores a 250 mg./100 c. c. Obrando así, es evidente que, en todo caso, situamos el experimento en circunstancias más bien adversas. Para el H. pertussis se empleó el medio líquido de Verwey (45).

Mezclas.

Se han hecho disolviendo previamente los componentes. El cloramfenicol («Clorofenicina») se disolvió primero en una pequeña cantidad de alcohol, completando después con agua estéril hasta el 1 por 100. Esta solución cristaliza al cabo de unas horas, pero se redisuelve con calor a 45-50°, que no afecta su potencia. Se emplea, conservándola en frigorífico a 5°, durante un período no superior a un mes.

La dihidro-estreptomicina se disuelve en agua, obteniéndose una solución madre al 1 por 100 que se mantiene en frigorífico, renovándola cada ocho días.

El AH_1 se disuelve, transformándolo en clorhidrato. La solución madre al 1 por 100 es ligeramente ácida (pH = 5). Se conserva también en frigorífico. Disuelto se oxida lentamente, desarrollando un color verde azulado, pero no pierde por este hecho su actividad.

Las sulfamidas se solubilizan, transformándolas en la sal sódica. La solución al 1 por 100 tiene un pH de 8-9.

Técnica de la prueba.

Generalmente, la mezcla se ha valorado al mismo tiempo que sus componentes individuales, con objeto de compensar, en lo posible, las causas de error (medios de cultivo, cantidad de siembra, etc.).

Tanto la mezcla como los elementos que entran en su composición, se diluyen, a partir de las soluciones madres, hasta el rango estimado conveniente, empleando el medio de cultivo por lo menos en las dos últimas diluciones de-

cimales. De cada dilución final se prueban, en tubos de hemolisis, seis diluciones· 1 c. c. a 0,1 c. c. Se completan los tubos a 1 c. c. con el medio correspondiente, y se agrega 0,1 c. c. de la dilución del cultivo. Estas diluciones han sido las siguientes: E. tiphi = Cultivo en caldo de dieciocho-veinticuatro horas, 1/200 (unos dos-cinco millones de gérmenes por tubo). Brucella: Cultivo de cuarenta y ocho horas, diluído al 1/5 (10-20 M.). H. pertussis = Cultivo de cuarenta y ocho horas, diluído al 1/20 (10-20 M.). (Siembra muy abundante, otra circunstancia desfavorable para el experimento.) Después de agitar todos los tubos, se incuban a 37° (los pertussis inclinados, para facilitar el crecimiento por mayor superficie de aireación).

Estimación de los resultados.

Las lecturas se hacen a simple vista, después de veinticuatro horas de incubación de los tíficos y cuarenta y ocho horas de los brucellas y pertussis, tomando como punto límite el primer tubo en que hay inhibición total del crecimiento. Se calcula el contenido de los distintos elementos de la mezcla contenida en dicho tubo, y se determina el porcentaje de esta D. M. I. en relación con la correspondiente dosis individual que ha producido inhibición total en la prueba realizada al mismo tiempo. La suma de estos porcentajes representará la fracción o múltiplo por 100 de la dosis individual total. La cifra de efecto representa la actividad relativa de las mezclas respecto a la suma de las actividades individuales. Por ejemplo: siendo 100 por 100 la suma de la actividad de los componentes individuales, si la suma de los porcentajes de las D. M. I. encontradas representan un 20 por 100, la mezcla en cuestión será cinco veces más activa que los componentes: Efecto = 5 = Sinergia = 500 por 100 de actividad relativa. Si la indicada suma de los por 100 de las D. M. I. encontrada es 100 por 100 tendremos: Efecto = 1 = Adición = 100 por 100 de actividad relativa. Si la referida suma es 500 tendremos: Efecto = 0,2 = Antagonismo (cinco veces menos activa) = 20 por 100 de actividad relativa (cuadro núm. 1). En consecuencia, cifras inferiores a la unidad indican acción antagónica, y superiores representan sinergismo. Como es natural, la cifra 1, y las más aproximadas a esta cifra, teniendo en cuenta el error inherente a este tipo de pruebas (20 por 100), suponen una acción simplemente aditiva. Por tanto, sólo admitimos como acciones diferentes de la simplemente aditiva las representadas por cifras superiores a 1,20 e inferiores a 0,80.

RESULTADOS

En el cuadro núm. 1 se dan las dosis mínimas inhibitorias (D. M. I.) de cada uno de los compuestos individuales frente al E. tiphi, H. per-

CUADRO NUM. 1

ACTIVIDAD DE LAS MEZCLAS

EJEMPLOS DE COMPUTACIÓN DE LOS RESULTADOS

Microorganismo de prueba: *E. Tiphi.*

Mezclas	Composición %		D. M. I. Individual mcg /c. c.	D. M. I. Mezcla mcg./c. c.	% de la D. M. I. individual	Total por % de la dosis	Efecto
M-32	Cloramfenicol	40,00	2.0	0,4	20,000		
	AH_1	20,00	200,0	0,2	0,100	20,11	4,97
	Tiazol	40,00	3.000,0	0,4	0,013		
M-33	Cloramfenicol	50,00	2.0	2,0	100,00		
	AH_1	20,00	200,0	0,8	0,40	100,44	0,99
	Tiazol	30,00	3.000,0	1,2	0,04		
	Microorganismo de prueba: *B. Abortus.*						
M-1	Cloramfenicol	16,6	0,5	0,25	50,0	100,0	1,00
	AH_1	83,4	25,0	12,50	50,0		
M-13	Cloramfenicol	8,3	0,6	0,16	26,0		
	Dihidroestrept.[a]	16,6	1,0	0,32	32,0	65,0	1,53
	AH_1	75,1	20,0	1,40	7,0		
I-44	Cloramfenicol	0,1	0,8	0,02	2,5		
	AH_1	19,9	40,0	3,80	9,0	12,7	7,87
	Tiazol	40,0	2.000,0	8,00	0,4		
	Diacina	40,0	1.000,0	8,00	0,8		
	Microorganismo de prueba: *H. Pertussis.*						
M-6	Cloramfenicol	0,97	2,0	0,5	25,0		
	Dihidroestrept.[a]	1,94	8,0	1,0	12,0	62,0	1,60
	AH_1	97.09	200,0	50,0	25,0		
M-44	Cloramfenicol	0,1	2,0	0,2	10,0		
	AH_1	19,9	300,0	38,0	12,0	27,0	3,70
	Tiazol	80,0	3.000,0	160,0	5,0		

Efecto: $> 1{,}20$ = Sinergia; $< 0{,}80$ = Antagonismo.

tussis y B. abortus. Estas se han mostrado muy constantes a través de todas las experiencias, y sólo en pocas de ellas se han encontrado las cifras indicadas en segundo lugar, por lo que el promedio resulta próximo a las primeras representadas.

En las mezclas de dos elementos vemos que el cloramfenicol y el AH_1 son, en general, sinérgicas, con la excepción de la M. 3, que contiene una cantidad muy pequeña del primer componente. La mezcla que contiene 20 y 80 por 100 (M-4), respectivamente, parece la más sinérgica frente al tífico, mientras que para el H. pertussis resulta mejor la que contiene los componentes a partes iguales (M-5).

Las mezclas de cloramfenicol y sulfatiazol sólo producen una acción aditiva frente al tífico, resultados que coinciden con los obtenidos por Price y colaboradores (26), y aunque en su mezcla la proporción de cloramfenicol era solamente 0,01 por 100, cantidades mayores, incluso del 50 por 100, producen también efectos aditivos. Solamente una mezcla, la M-29, que contiene 25 por 100 del primero de dichos componentes, mostró una pequeña sinergia frente al E. tiphi, y más marcada frente al H. pertussis.

CUADRO NUM. 2

DOSIS MINIMAS INHIBITORIAS INDIVIDUALES (MCG./C. C.)

Producto	*E. tiphi* mcg./c. c.	*B. abortus* mcg./c. c.	*H. pertussis* mcg./c. c.
Cloramfenicol	2-4	0.5-0.8	2-4
Dihidroestreptomicina		1-2 (1,6)	8-10 (8,5)
AH_1	200-400	25-40	200-400
Sulfamidatiazol	3.000-4.000	2.000	2.000-3.000
Sulfadiacina	4.000	1.000	2.000-5.000

Las mezclas de AH_1 y sulfatiazol muestran un efecto de adición frente al E. tiphi. En cambio, frente al H. pertussis presenta una gran diferencia según la proporción de los componentes, puesto que a partes iguales muestran una acción sumativa, mientras que son intensamente antagónicas con la proporción de 20 por 100 AH_1, es decir, con mayores cantidades de tiazol.

El cloramfenicol y dihidroestreptomicina presentan frente al H. pertussis una acción sinérgica con la mezcla con la que Price y sus colaboradores (M-54) mostraron dicho efecto frente al tífico, pero se obtiene una potencialización mucho mayor con la combinación a partes iguales (M-55). La mezcla de sulfatiazol y sulfadiacina sólo se ha probado frente al H. pertussis, mostrando un efecto aditivo.

CUADRO NUM. 3

ACTIVIDAD DE LAS MEZCLAS

Microorganismo de prueba: *E. Tiphi.*

MEZCLAS	COMPOSICION CENTESIMAL					RESULTADOS	
	Cl.	Dh.	AH.	T.	Sd.	% de la D. M. I. individual	Efecto.
M-1	16,6	—	83,4	—	—	50 + 20 70,00	1,42
M-2	15,8	—	84,2	—	—	50 + 14 64,00	1,56
M-3	0,05	—	99,95	—	—	50 + 60 110,00	0,90
M-4	20,00	—	80,00	—	—	20 + 8 28,00	3,57
M-5	50,00	—	50,00	—	—	75 + 0,07 75,07	1,33
M-5-1	1,00	—	—	99,00	—	100 + 5 105,00	0,95
M-6-1	0,24	—	—	99,76	—	80 + 30 110,00	0,90
M-28	50,00	—	—	50,00	—	100 + 0,05 100,05	0,99
M-29	25,00	—	—	75,00	—	75 + 0,1 75,10	1,33
M-5-2	—	—	50,00	50,00	—	66 + 20 86,00	1,16
M-6-2	—	—	20,00	80,00	—	50 + 40 90,00	1,11
M-5-3	0,66	—	34.14	65,20	—	50 + 11 + 10 71,00	1,40
M-7-1	50,00	—	25,00	25,00	—	100 + 0,025 + 0,25 100,27	0,99
M-25	10,00	—	20,00	70,00	—	100 + 4 + 0,9 104,90	0,95
M-26	20,00	—	20,00	60,00	—	50 + 0,5 + 0,1 50,60	1,97
M-27	30,00	—	20.00	50,00	—	50 + 0,5 + 0,6 ... ... 50.56	1,97
M-32 (Sinactin)	40,00	—	20,00	40,00	—	20 + 0,1 + 0,013 20,11	4,97
M-33	50.00	—	20,00	30,00	—	100 + 0,4 + 0,04 100,44	0,99
M-34	60,00	—	20,00	20,00	—	120 + 4 + 0,4 124,40	0,80
M-35	75,00	—	20,00	5,00	—	150 + 4 + 0,1 154,10	0,64
M-38	0,050		9,80	90,15	—	25 + 50 + 43 ... ... 118.00	0,84
M-42	0,007	—	28,56	71,433	—	26 + 50 + 12 ... ... 88.00	1,21
M-44	0,10	—	19,90	80,00	—	10 + 9 + 4 ... ... 23.00	4,34
M-44 b			20,00	40,00	40,00	20 + 20 + 66 ... ... 106.00	0,94
M-44 D	0,10	—	19,90	—	80,00	20 + 30 + 16 ... ... 66.00	1,51
I-44	0,10	—	19.90	40.00	40,00	20 + 38 + 5 + 8 71,00	1,40

Efecto: $> 1{,}2$ = Sinergismo; $< 0{,}8$ = Antagonismo.

CUADRO NUM. 1

ACTIVIDAD DE LAS MEZCLAS

Microorganismo de prueba: *B. Abortus.*

MEZCLAS	COMPOSICION CENTESIMAL					RESULTADOS	
	Cl.	Dh.	AH.	T.	Sd.	% de la dosis D. M. I. individual.	Efecto.
M-1	16,60	—	83,40	—	—	50 + 50 100,0	1,00
M-2-b	1,20	—	98,80	—	—	27 + 50 77,0	1,29
M-32	40,00	—	20,00	40,0	—	20 + 1 + 0,4 21,4	4,67
M-32 D (NDC)	40,00	—	20,00	—	40,00	15 + 0,75 + 0,25 16,0	6,25
M-44	0,10	—	19,90	80,0	—	7,5 + 28 + 2,4 37,9	2,69
M-44 D	0,10	—	19,90	—	80,0	2 + 9 + 1,6 12,6	7,93
I-44	0,10	—	19,90	40,0	40,0	2,5 + 9 + 0,4 + 0,8 12,7	7,87
M-6	0,97	1,94	97,09	—	—	25 + 25 + 25 75,0	1,50
M-11	12,50	25,00	62,50	—	—	6 + 3 + 18 27,0	3,70
M-13	8,30	16,60	75,10	—	—	26 + 32 + 7 65,0	1,53
M-19	6,74	50,00	43,26	—	—	8 + 25 + 1 34,0	2,91

Efecto: $< 1{,}20 =$ Sinergismo; $< 0{,}80 =$ Antagonismo.

CUADRO NUM. 5

ACTIVIDAD DE LAS MEZCLAS

Microorganismo de prueba: *H. Pertussis.*

MEZCLAS	COMPOSICION CENTESIMAL					RESULTADOS	
	Cl.	Dh.	AH	T.	Sd	% de la D. M. I. individual	Efecto.
M-3	0,05	—	99,95	—	—	33 + 66 ... ... 99.00	1,09
M-4	20,00	—	80,00	—	—	20 + 0,8 20,80	4,80
M-5	50,00	—	50,00	—	—	20 + 0,2 20,20	4,95
M-29	25,00	—	—	75,00	—	50 + 0,15 50,15	1,99
M-5-2	—	—	50,00	50,00	—	100 + 10 110,00	0,90
M-6-2	—	—	20,00	80,00	—	120 + 48 168,00	0,59
M-5-b	—	—	—	50,00	50,00	50 + 50 100,00	1,00
M-54	14,00	86,00	—	—	—	42 + 31 73,00	1,37
M-55	50.00	50,00	—	—	—	25 + 4 29,00	3,44
M-32 (Sinactin)	40,00	—	20,00	40,00	—	20 + 1 + 0,4 21,40	4,67
I-32	40,00	—	20,00	20,00	20,00	20 + 1 + 0,2 + 0,2 20,4	4,67
M-44	0,1	—	19,90	80,00	—	10 + 12 + 5 27,0	3,70
M-44-b	–		20,00	40,00	40,00	20 + 4 + 1,6 25,6	3,90
I-44	0.1		19,90	40,00	40,00	10 + 19 + 4 + 1,6 ... ... 34.6	2.89
M-45	1.0		19,00	80,00	—	30 + 50 + 20 100	1,00
M-6	0,97	1,94	97,09	—	—	25 + 12 + 25 62,0	1,60
M-11	12,50	25,00	62,50	—	—	50 + 10 + 1,6 61,6	1,60
M-13	8,30	16,60	75,10	—	—	20 + 16 + 1,8 37,8	2,69
M-16	0,20	1,50	98,30	—	—	18 + 19 + 6 43,0	2,32
M-16-b	14.90	11,40	73,70	—	—	15 + 11 + 7 33,0	3,00
M-17	5,70	22,20	72,10	—	—	24 + 9 + 3 36,0	2,77
M-18	2,30	37,00	60,00	—	—	12 + 13 + 2 27,0	3,70
M-19 (Clahsin)	6,74	50,00	43,26	—	—	12 + 9 + 0,7 21,7	4,55

Efecto: $>$ 1,2 = Sinergismo; $<$ 0,8 = Antagonismo.

CUADRO NUM. 6

COMPARATIVO DE VARIAS MEZCLAS FRENTE A TRES GERMENES DE PRUEBA

MEZCLAS	COMPOSICION CENTESIMAL					EFECTO		
	Cl.	Dh.	AH_2	T	Sd.	*E. tiphi*	*B. abortus*	*H. pertussis*
M-3	0,05	—	99,95	—	—	0,90	—	1,09
M-1	16,60	—	83,40	—	—	1,40	1,00	—
M-4	20,00	—	80,00	—	—	3,50		3,57
M-5	50,00	—	50,00	—	—	1,30		4,50
M-29	25,00	—	—	75,00	—	0,90	1,30	1,95
M-5-2	—	—	50,00	50,00	—	1,16	—	0,90
M-44	0,10	—	19,90	80,00	—	4,34	3,40	2,85
I + 44	0,10		19,90	40,00	40,00	1,40	3,90	2,89
M-32	40,00	—	20,00	40,00	—	4,97	4,67	4,67
M-19	6,74	50,00	43,26	—	—		2,94	4,55

Efecto: $> 1,2$ = Sinergismo; $< 0,8$ = Antagonismo.

La influencia de las proporciones relativas de las mezclas se manifiesta todavía con más claridad en las combinaciones de tres elementos, especialmente frente al E. tiphi. Puede verse (cuadro núm. 3) cómo con una cierta regularidad, a medida que aumenta la cantidad de cloramfenicol en las mezclas, la sinergia es mayor hasta un límite máximo, marcado por la M-32, que contiene un 40 por 100.

Con un 10 por 100 más (M-33) se encuentra sólo efecto sumativo, y con un 25 por 100 más se demuestra el mayor efecto antogónico de todas las mezclas probadas. Tenemos, sin embargo, la excepción de la mezcla M-44 y sus variantes M-44 D y I-44, en las que con una pequeña proporción de cloramfenicol se produce una sinergia notable, por lo que esta mezcla, así como la M-32, está siendo estudiada detenidamente frente a numerosos gérmenes, y los resultados aparecerán oportunamente.

Se observará también que en las mezclas en las que se ha sustituído el sulfatiazol por la sulfadiacina, en todo o en parte, el efecto sinérgico es bastante menor, excepto cuando se trata del B. abortus, frente al cual se muestran más sinérgicas las mezclas que contienen sulfadiacina.

Con respecto a las mezclas de cloramfenicol, dihidroestreptomicina y AH_1 probadas, solamente frente al H. pertussis y B. abortus se aprecia en todas ellas un efecto sinérgico más o menos intenso, sin que, por la arbitrariedad de la composición de las combinaciones, podamos discernir cuál pueda ser la influencia de cada uno de los componentes.

COMENTARIOS

Lo más interesante de nuestro trabajo se centra, a nuestro entender, en haber podido demostrar la potencialidad que confiere el AH_1, un antihistamínico de síntesis, al cloramfenicol y la posibilidad de, junto con el sulfatiazol, obtener combinaciones igual o más activas sobre ciertos grupos de gérmenes que el propio cloramfenicol, con lo que puede reducirse considerablemente la dosis del antibiótico, o reforzar su acción antibacteriana. Actualmente estamos estudiando el espectro antibacteriano completo (incluído el M. tuberculosis) de las mezclas que se han mostrado más activas frente a los tres gérmenes probados, así como su acción sobre la resistencia bacteriana. Los resultados obtenidos serán publicados oportunamente.

Ya en trabajos anteriores (40) (41) fuimos los primeros en demostrar la actividad antibacteriana in vitro de los antihistamínicos de síntesis, y muy especialmente del denominado AH_1, sintetizado en este Instituto, y caracterizado por su toxicidad relativamente baja, y nuestros resultados fueron confirmados por Scuro (46) por lo que se refiere a la actividad antibacteriana de dichos cuerpos. Se indicó entonces la posibilidad de su empleo como quimio-

terápico frente a ciertos grupos de gérmenes, especialmente el género Brucella, contra los cuales presentaba una actividad antibacteriana más marcada. Su acción sinérgica con antibióticos tales como el cloramfenicol y estreptomicina facilita la incorporación a la terapéutica antiinfecciosa de un cuerpo de doble acción, que al menos teóricamente actuaría sobre el germen y sobre los procesos reaccionales del huésped. Se sabe desde hace tiempo que muchas enfermedades infecciosas transcurren con un fondo alérgico, al que se atribuyen muchos de los síntomas y hasta lesiones anatomopatológicas, y entre ellas de las más características son la tos ferina y las brucelosis. Algunas de las lesiones de la f. tifoidea, como las ulceraciones de faringe y del intestino, se asimilan en su mecanismo de producción al denominado fenómeno de Sanarelli-Schwarztman, una especial modalidad de alergia. En relación con estas sugestiones, Pittman (47) ha podido demostrar experimentalmente un aumento considerable de la sensibilidad a la histamina en ratones infectados por vía nasal con el H. pertussis, infección que produce una enfermedad pulmonar en muchos aspectos comparable a la tos ferina. Igualmente el hecho demostrado por Ralston y Paynes (48) de la desaparición de las reacciones secundarias producidas por el cloramfenicol y la aureomicina mediante la administración de un antihistamínico puede explicarse por la protección conferida al organismo por este tipo de drogas frente a las substancias procedentes de los gérmenes en vías de destrucción a causa de la acción del antibiótico.

Lo cierto es que la asociación a los antibióticos de un quimioterápico-antihistamínico, que como el AH_1 es de baja toxicidad, pero que, si bien posee actividad bactericida, no tiene potencia antibacteriana suficiente para muchos gérmenes, puede constituir un gran progreso en el tratamiento de las enfermedades infecciosas.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

1) Se estudia la acción antibacteriana in vitro frente al E. tiphi, H. pertussis y B. abortus de numerosas mezclas de dos y tres componentes, de las que forman parte en varias combinaciones cualitativas y cuantitativas el cloramfenicol, dihidroestreptomicina, sulfatiazol, sulfadiacina y un antihistamínico sintetizado en este Laboratorio, dotado de actividad bactericida y denominado AH_1.

2) Las mezclas, según las proporciones de sus componentes, muestran un efecto sinérgico, aditivo o, a veces, antagónico.

3) El AH_1 muestra una acción sinérgica con el cloramfenicol y de sumación con el sulfatiazol, pero los tres elementos juntos, en determinadas proporciones, se sinergizan fuertemente contra los tres gérmenes probados.

4) Igualmente las mezclas de cloramfenicol, dihidroestreptomicina y AH_1

se han mostrado sinérgicas frente al H. pertussis y B. abortus, especialmente cuando se combinan en ciertas proporciones.

5) Se sugiere la posibilidad de que los antihistamínicos, y especialmente el AH_1, de baja toxicidad y notables propiedades bactericidas, asociado a los quimioterápicos, disminuya o anule efectos secundarios de ciertos antibióticos, así como las reacciones de tipo alérgico, fenómenos todos que, en sentido amplio, pueden interpretarse como reacciones del organismo inducidas por substancias procedentes, al menos en gran parte, de los gérmenes invasores.

6) Se hace notar, como resultado de nuestra experiencia y de la de otros autores que, una vez decidido el empleo en el tratamiento de combinaciones de antibióticos, quimioterápicos o de ambos, es indispensable la utilización de mezclas, cuya composición cualitativa y cuantitativa haya sido estudiada previamente y considerada óptima desde el punto de vista experimental y clínico, constituyendo en sí estas combinaciones entidades terapéuticas de propiedades fijas, conocidas y controlables, siendo condenable, en términos generales, el uso de tratamientos combinados instituídos arbitrariamente en su composición y administración, con los que, en lugar de la suma de efectos o de la sinergia pretendidas, pueden obtenerse resultados antagónicos.

BIBLIOGRAFIA

(1) BIGGER, J. W. 1946. Lancet. 250: 81.
(2) THOMAS, J. C. y HAYES, W. 1947. J. Hyg. 45: 313.
(3) COMMERFORD, C. H. et alter. 1946. Lancet. 251: 81.
(4) MASSEL, B. F. et alter. 1946. J. Bact. 52: 33.
(5) STEWART, G. T. 1947. J. Hyg. 45: 282.
(6) FOLEY, E. J. 1948. J. Immunol. 58: 203.
(7) DESPOIS, R. y PINNET, S. 1950. C. R. Soc. Biol. 114: 23.
(8) NICHOLS, A. 1949. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 69: 477.
(9) EDITORIAL. 1950. J. A. M. A. 143: 816.
(10) PULASKI, E. J. y BAKER, H. J. 1949. J. Clin. Med. 34: 186.
(11) PULASKI, E. J. y AMSPACHER, W. H. 1947. Bull. U. S. Army Med. Dep. 7: 211.
(12) EISELE, C. W. y MC. CULLOUGHT, N. B. 1947. J. A. M. A. 135: 1.053.
(13) SPINK, W. E. et alter. 1948. J. A. M. A. 136: 382.
(14) HERRELL W. E. y BARBER, T. E. 1949. Proc. Staff. Meet. Mayo. Clin. 24: 138.
(15) HERRELL, W. E. et alter. 1950. Ibid. 25: 185.
(16) HEILMAN, F. R. 1949. Proc. Staff. Meet. Mayo. Clin. 24: 133.
(17) WERNER, C. A. y KNIGHT, V. I. 1950. J. Immunol. 65: 509.
(18) EAGLE, H. y FLEISCHMAN, R. 1948. Proc. Exp. Biol. Med. 68: 415.

(19) LEHR D. et alter. 1946. J. Ped. 29: 275.
(20) LEDBETER, J. H. y CRONHEIM, G. F. 1948. Am. J. Med. Sc. 216: 27.
(21) LEHR, D. 1947. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 64: 393.
(22) SCHWEINBURG, F. B. y RUTENBURG, A. M. 1950. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 74: 480.
(23) JAWETZ, E. et alter. 1950. Science. 111: 254.
(24) JAWETZ, E. y SPECK, R. S. 1950. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 74: 93.
(25) GUNNISON, J. B. et alter. 1950. Ibid. 75: 549.
(26) PRICE, C. W. et alter. 1949. Am. J. Pub. Heatlh. 39. n.° 3.
(27) LITCHFIELD, J. R. y FESTIG, J. W. 1951. Bull. John Hopkins Hosp. 69: 276.
(28) BLISS, E. A. y TODD, H. P. 1949. J. Bact. 58: 61.
(29) RECINOS, A. et alter. 1949. New England. J. Med. 241: 733.
(30) PARKER, R. T. et alter. 1950. J. A. M. A. 143: 7.
(31) ENGLISH, A. R. y MC. LOY, E. 1951. J. Bact. 61: 51.
(32) GRAESLE, O. E. y PIETROWSKI, J. J. 1949. J. Bact. 57: 459.
(33) KARLSON, A. G. et alter. 1949. Proc. Staff. Meet. Mayo. Clin. 24: 85.
(34) VENNESLAND, K. et alter. 1948. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 68: 250.
(35) BLOCH, R. G. et alter. 1949. Am. Rev. Tuberc. 59: 554.
(36) HOBBY, G. et alter. 1949. Am. Rev. Tuberc. 60: 808.
(37) DELAUDE, A. et alter. 1949. Proc. Staff. Meet. Mayo. Clin. 24: 341.
(38) VENNESLAND, K. et alter. 1950. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 75: 436.
(39) WELCH, H. et alter. 1950. J. Am. Pharmac. Ass. 39: 483.
(40) MEGIAS, G. 1947. An. Inst. Llorente. 5: 20.
(41) MEGIAS, G. e IBAÑEZ, R. 1951. Comunicación a la III Reunión de Sanitarios Españoles. (En prensa.)
(42) GARCIA DE JALON, P. 1945. Farmacot. Actual. I, 35.
(43) MORENO DE VEGA, F. y MEGIAS, G. Nov. 1947. Rev. Clin. Esp.
(44) RANEDO, J. y MEGIAS BOIX, J. 1946. An. Inst. Llorente. 4: 3.
45) VERWEY, W. F. et alter. 1949. J. Bact. 55: 127.
(46) SCURO, L. A. 1949. Giorn. Batter, Immunol. 40: 281.
(47) PITTMAN, M. 1951. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 77: 70.
(48) RALSTON, R. J. y PAYNE, E. H. 1950. J. A. M. A. 142: 159.

LABORATORIO DEL COLEGIO OFICIAL DE FARMACEUTICOS
DE LA PROVINCIA DE SEVILLA

PROCESOS QUIMICOS Y MICROBIOLOGICOS EN LA FERMENTACION DE LAS ACEITUNAS SEVILLANAS

PRIMERA COMUNICACION

Miguel Martínez, Miguel Romero y Lorenzo Monzón.

Ninguna industria de nuestra región puede ostentar con mayor derecho el calificativo de típica que el de las aceitunas fermentadas en verde.

Pero también son conocidas las situaciones, a veces catastróficas, y que tantas pérdidas han originado a la Economía, cuando por motivos no bien conocidos, y por lo tanto incontrolables, se han torcido las fermentaciones de siempre normales, con esas enfermedades o alteraciones mal conocidas, a las que se denominan zapateras, alambrado, manchas de levadura, etc., etc.

La recolección de la denominada aceituna de verdeo se hace generalmente entre el 15 de septiembre y 1.º de octubre hasta, aproximadamente, el 1.º de noviembre.

Este espacio de tiempo es tan corto porque es muy importante el estado de madurez en que se recoja el fruto, que no debe ser excesivo, para evitar el futuro blandeamiento de la pulpa; su color debe ir del verde al amarillo paja, y los cuidados en su manejo, en su recolección y transporte, para evitar magullamiento de aquél, son extraordinarios, pues cualquier defecto inicial, excesiva madurez, magullamiento, picadura de insectos, etc., se acusan enormemente en los procesos subsiguientes de fermentación y obligan a desecharla.

El fruto recolectado se le somete en tanques especialmente construídos a la acción de lejías alcalinas (de concentración en hidróxido sódico variada), con la finalidad de separarle el amargor natural del glucósido oleoeuropeína que contienen, y después a lavados con agua fría, para eliminar los últimos restos de lejía.

Estas operaciones son delicadas, pues conviene que el álcali penetre generalmente hasta dos tercios en el camino hasta el hueso, pero ni más ni menos, pues de lo contrario puede debilitarse el color y ablandarse la pulpa en

el primer caso, y perder totalmente el amargor, que ejerce cierta influencia en el aroma final, en el segundo.

Viene después la puesta en salmuera, para lo que se llenan barriles o bocoyes con la misma y en las que se cargan con salmuera de concentraciones apropiadas (generalmente con un 10 por 100 de cloruro sódico), y se dejan fermentar al aire libre en patios y expuestos al sol, procurando evitar la humedad del suelo y llenando totalmente de salmuera los bocoyes. Como es natural, la fermentación tiene lugar más rápidamente en tiempo caluroso y suele durar de uno a tres meses.

Una fermentación que transcurre normalmente da lugar a vivo desprendimiento de gases (principalmente carbónico), pues lleva consigo una abundante espumación en las primeras fases y luego va apaciguándose, siendo muy importante la operación denominada «requerido», que consiste en reponer diariamente con salmuera las pérdidas que las contracciones, la temperatura, el desprendimiento de gases origina, con la finalidad de que el aire tenga el menor acceso posible a la aceituna, que a la vez que una decoloración indeseable aportaría una serie de gérmenes, levaduras, hongos, que podrían desviar la fermentación de su marcha normal.

No son aún muy bien conocidos los procesos químicos y microbiológicos que tienen lugar en la fermentación de las aceitunas aliñadas, pero se cree, y con cierto fundamento, que es esta fermentación de las que se deben incluir entre las denominadas «ácido láctico», y, como es natural, es muy importante conocer la composición química de la aceituna verde, pues de su mayor o menor contenido en azúcares fermentables dependerá la formación de ácidos orgánicos, principalmente láctico, así como también de lo que los tratamientos a que se le somete pueden restarle (mayor duración del tratamiento alcalino y lavado), que origina pérdidas en azúcares, o mayor alcalinidad que reste antes de ser puesta en salmuera, lo que puede obligar no sólo a que los gérmenes actúen con más dificultad, e incluso los menos deseables, sino también a que una parte de la acidez necesaria en el proceso sea neutralizada por el exceso de álcali que quedó del tratamiento con lejía.

Que las cifras de cloruro tienen decisiva importancia lo demuestra el arrugamiento que a veces originan en la piel de la aceituna, y de otra porque sus contracciones son más o menos óptimas para determinados gérmenes deseables o no.

Parece natural, en primer lugar, que se estudien los cambios que de orden químico tienen lugar en estos procesos con la finalidad de averiguar como transcurren en los procesos normales y como paso previo para estudiar y, en su caso, saber corregir o, mejor aún, impedir el dar paso a fermentaciones cuya marcha sea normal.

Esto nos ha conducido a efectuar el estudio experimental, de un lado, de

algunas características químicas: contenido en cloruros de la salmuera, pH y acidez total en diferentes fases de la fermentación, y de otro, el estudio microbiológico en esas mismas fases, procurando efectuar junto a una cuantitativa de gérmenes positivos y negativos, su separación y estudio con la finalidad de identificar el género y la especie en los casos que ello fuese posible.

Para ello se han seguido las técnicas preconizadas por Orla-Jensen, Pederson, Vaughn, Levine y sus colaboradores, así como la marcha recomendada en el manual de claves de clasificación microbiológica de Bergey.

A continuación se detalla la parte experimental efectuada, que no es completa, pues nuestro propósito al hacer este trabajo inicial es continuarlo en etapas sucesivas hasta obtener una visión de conjunto lo más amplia posible de lo que son estos procesos de índole químico-microbiológica.

CUADRO I

SIEMBRA EN CALDO LACTOSA. (AEROBIOSIS, TUBOS DE FERMENTACION; INCUBACION, A 30°; FECHA RECOGIDA, 24/10/50, Y FECHA DE SIEMBRA, 24/10/50).

Núm.	Fecha puesta en salmuera	Observación a las veinticuatro horas	Observación a las cuarenta y ocho horas
1	24-10-50	Gases = 0 velo superficie.	Gases = 0 velo y turbiedad.
2	21-10-50	" = una burbuja grumos.	" 1/5 tubo muy turbio.
3	20-10-50	" = 0 ligera turbiedad.	" 1/20 tubo turbiedad.
4	19-10-50	" = 1/20 grumos y velos.	" 1/2 tubo muy turbio.
5	18-10-50	" = 1/20 grumos y velos.	" 1/10 tubo grumos y turbiedad.
6	16-10-50	" = 1/20 turbiedad y velo	" 1/4 tubo grumos y turbio.
7	14-10-50	" = 1/20 turbiedad y velo	" 1/3 tubo turbiedad.
8	12-10-50	" = 1/30 poco turbio.	" 1/20 tubo turbiedad.
9	10-10-50	" una burbujita poco turbio.	" pocas burbujas, poco turbio.
10	8-10-50	" = 0 poco turbio.	" burbujita y turbiedad.
11	6-10-50	" = 0 turbio.	" = 0 turbio.
12	4-10-50	" = 0 "	" = 0 turbio.
13	2-10-50	" = 0 "	" = 0 velo.
14	9-10-50	" = 0 "	" = 0 turbio.
15	28-9-50	" = 0 "	" burbujitas turbio.
16	26-9-50	" = 0 "	" = 0 turbio.
17	24-9-50	" = 0 "	" burbujitas turbiedad.
18	22-9-50	" = 0 "	" burbujitas turbiedad.
19	20-9-50	" = 0 "	" = 0 turbio.
20	Testigo	" = 0 claro.	" = 0 claro.

En las primeras 18 muestras, variedad manzanilla; la núm. 19, variedad gordal, y el 20, testigo.

PARTE EXPERIMENTAL

Se procedió en primer lugar a la determinación cualitativa de los gérmenes Gram-negativos y Gram-positivos que pudieran estar presentes en las salmueras de fermentación de las aceitunas sevillanas (variedad manzanilla).

Para ello, y a partir de los frascos que contenían las salmueras recogidas (con distintas fechas de puesta en salmuera), se sembraron tubos conteniendo caldo-lactosa con tubitos de fermentación y aerobiosis, incubando en estufa a 30° C.

La producción de gases en un intervalo de tiempo de veinticuatro a cuarenta y ocho horas nos indicaría la presencia de gérmenes de los grupos Escherichia y Aerobacter.

En el cuadro núm. 1 se detallan estas observaciones.

Para investigar la presencia de gérmenes anaerobios del grupo sacarolítico, como los del grupo clostridium, butilicum, etc., se sembró igualmente la salmuera en tubos conteniendo caldo-glucosa en anaerobiosis (ácido

CUADRO II

SIEMBRA EN CALDO GLUCOSA. ANAEROBIOSIS (ACIDO PIROGÁLICO EN MEDIO ALCALINO) TUBO DE FERMENTACIÓN INCUBACIÓN A 30°. NEUTRALIZACIÓN PREVIA DE LA SALMUERA CON CARBONATO CÁLCICO EN BAÑOMARÍA

Núm.	Fecha puesta en salmuera	Observación a las veinticuatro horas	Observación a las cuarenta y ocho horas
1	24-10-50		
2	21-10-50		
3	20-10-50		
4	19-10-50		
5	18-10-50		
6	16-10-50		
7	14-10-50		
8	12-10-50	En ninguno de los tubos se observaron ni gases ni turbiedad ni grumos.	
9	10-10-50		
10	8-10-50		
11	6-10-50		
12	4-10-50		
13	2-10-50		
14	30-9-50		
15	28-9-50		
16	26-9-50		
17	24-9-50		
18	22-9-50		
19	20-9-50		
20	Testigo	Gases 0 líquido claro.	Gases 0 líquido claro.

pirogálico en medio alcalino), en tubo de fermentación e incubación a 30° C, y cuyos resultados se señalan en el cuadro núm. 2.

Al mismo tiempo, y para investigar la presencia en las salmueras de gérmenes Gram-positivos de los géneros Leuconostoc y Bacterium lacticum, se sembraron aquéllas en tubos con jugo de tomate filtrado ajustado a pH 4,0 en anaerobiosis e incubación en estufa a 30° C.

CUADRO III

SIEMBRA EN JUGO DE TOMATE. (ANAEROBIOSIS ÁCIDO PIROGÁLICO EN MEDIO ALCALINO) INCUBACIÓN A 30°

Núm.	Fecha puesta en salmuera	Turbiedad a las veinticuatro horas
1	24-10-50	Líquido claro.
2	21-10-50	Ligera turbiedad y grumos.
3	20-10-50	" " y grumitos.
4	19-10-50	" " "
5	18-10-50	" " "
6	16-10-50	" " "
7	14-10-50	Turbiedad acentuada grumos.
8	12-10-50	" " " velo y gases
9	10-10-50	" " " y gases.
10	8-10-50	" " "
11	6-10-50	" " "
12	4-10-50	" " "
13	2-10-50	" " "
14	30-9-50	" " "
15	28-9-50	Ligera turbiedad.
16	26-9-50	Turbiedad acentuada grumos.
17	24-9-50	Ligera turbiedad grumos.
18	22-9-50	Turbiedad acentuada grumos.
19	20-9-50	" " "
20	Testigo	Líquido claro.

Son estos ensayos de gran valor, porque nos permiten comprobar no sólo la presencia o ausencia de los gérmenes, con la finalidad de estar seguros de que una fermentación sigue una marcha normal (sin desviaciones), sino que es, a la vez, el primer paso para ir posteriormente al aislamiento de las mismas, con vistas a su identificación.

En el cuadro primero de siembra en el caldo-lactosa se demuestra la presencia de especies del grupo Escherichia por la formación de gases en algunos de sus tubos, y precisamente en las salmueras que están en su primera fase de fermentación.

En el segundo se siembra en caldo-glucosa (anaerobiosis); se comprueba la ausencia absoluta de las temibles bacterias anaerobias que tanto influjo ejercen en las fermentaciones anormales de las aceitunas y que son posiblemente en muchos casos la causa de su descomposición.

Y en el tercero, con jugo de tomate en anaerobiosis se comprueba la presencia de las beneficiosas bacterias lácticas, y precisamente más acentuadas en las últimas fases, lo que es una clara indicación de que la fermentación transcurre normalmente y que afortunadamente han sido vencidas por estas últimas las primitivas bacterias de los grupos Escherichia y Aerobacter.

El mismo día de la recogida de muestras de salmuera en los distintos bocoyes se determinó el pH en todos ellos, prácticándose a la vez la determinación de cloruros y la acidez total, datos que vienen reflejados en el cuadro núm. 4.

CUADRO IV

ENSAYOS FÍSICOS Y QUÍMICOS DE LAS SALMUERAS PROCEDENTES DE LAS ACEITUNAS SEVILLANAS (VARIEDAD MANZANILLA)

Núm.	Fecha puesta en salmuera	ClNa %	pH	Acidez total (en c. c. NaOH N/10 para 10 c. c. de muestra)
1	24-10-50	10,61		0,2 c. c.
2	21-10-50	5,45	5	0,74 c. c.
3	20-10-50	6,03	5	1,20 c. c.
4	19-10-50	5,56	5	1,5 c. c.
5	18-10-50	6,09	5	2 c. c.
6	16-10-50	5,39	5	3 c. c.
7	14-10-50	5,33	5	2 c. c.
8	12-10-50	5,68	4,5	3,24 c. c.
9	10-10-50	4,98	5	4 c. c.
10	8-10-50	5,39	4,5	4,74 c. c.
11	6-10-50	5,56	4,5	7 c. c.
12	4-10-50	6,14	4,5	5 c. c.
13	2-10-50	5,56	4,5	5 c. c.
14	30-9-50	5,33	4,5	4 c. c.
15	28-9-50	6,72	4,5	4 c. c.
16	26-9-50	5,45	4,5	3.50 c. c.
17	24-9-50	5,68	4,5	5 c. c.
18	22-9-50	6,38	4,5	5 c. c.
19	20-9-50	5,51	4	8 c. c.

En el momento actual se está trabajando en la identificación de los microorganismos aislados de las muestras anteriores, y en la próxima comunicación se informará acerca de este aspecto.

ESTACION EXPERIMENTAL DE "AULA DEI". ZARAGOZA
C. S. I. C.

NUEVOS SINTOMAS EN EL «DOCK MOSAIC» CAUSADOS POR EL «RUMEX VIRUS 1»

Félix Martínez Cordón.

INTRODUCCION

Entre las virosis vegetales hasta ahora poco estudiadas se encuentra la enfermedad conocida en Inglaterra con el nombre de Dock mosaic, la cual está producida por el virus denominado Rumex virus 1, que se presenta frecuentemente entre las plantas del género Rumex, de la familia de las Poligonáceas.

Los primeros trabajos sobre esta enfermedad fueron publicados por Grainger y Cockerham en 1930 (1), quienes describieron algunos síntomas externos de la enfermedad, estudiando también las propiedades del virus. Estos autores han descrito en las plantas del género Rumex atacadas por esta enfermedad, un moteado en la superficie anterior de las hojas, formado por unas zonas entremezcladas de colores verde oscuro y verde amarillento, que se presentan en las regiones interveniales, y que pueden extenderse también sobre varias venillas de las hojas, dando así lugar a un mosaico, síntoma muy común entre las virosis vegetales. (Fotografía 1.) Estos síntomas son enmascarados a una temperatura de 75° C. (2). El crecimiento de las plantas no es afectado por el ataque de este virus.

Entre la literatura referente a esta enfermedad no se encuentran citados ninguna otra clase de síntomas, ni tampoco anormalidades intracelulares de ninguna especie.

En los trabajos de Chamberlain y Matthews (3) sobre una enfermedad de las plantas del género Rumex, en Nueva Zelanda, que produce síntomas parecidos a los del dock mosaic, y que según opinión de estos investigadores es producida por otro virus diferente al descrito por Grainger y Cokerham en Inglaterra, tampoco se hace referencia a cuerpos de inclusión intracelulares ni a otros síntomas externos sobre las hojas que a los de tipo mosaico.

EL VIRUS

Las propiedades que presenta este virus son las siguientes: se inactiva por el calor a 80° C. durante un tratamiento de diez minutos; resiste solamente una dilución de 1:100; se inactiva por una solución de formalina al 2 % en treinta minutos, pero no por alcohol de 95 % en el mismo tiempo; el jugo obtenido de las plantas enfermas es infeccioso hasta transcurridos catorce días de su obtención; las hojas secas mantienen su poder infectivo durante unos veintiún días. Este virus se transmite mecánicamente, pero no se conoce su insecto vector.

Entre las plantas del género Rumex citadas como susceptibles de esta enfermedad están las siguientes especies: Rumex obtusifolius, Rumex lanceolatus y Rumex sanguineus.

NUEVOS SINTOMAS ENCONTRADOS

Se han logrado poner de manifiesto unos nuevos síntomas sobre plantas del género Rumex atacadas del «dock mosaic», consistentes en unos cuerpos de inclusión intracelulares de tipo amorfo, y unos nuevos síntomas externos de tipo muy diferente a los que hasta ahora se habían descrito en esta enfermedad.

Inclusiones intracelulares.

Pudieron observarse en el interior de las células de las hojas de las plantas atacadas por este virus la presencia de unos cuerpos de inclusión que no se encontraban en las células de las plantas sanas.

El material empleado para las observaciones microscópicas fueron cortes epidérmicos de hojas de plantas del género Rumex inoculadas experimentalmente con el «Rumex virus 1» y conservadas en invernaderos libres de insectos. Estos cortes se agruparon en dos series de preparaciones diferentes; para una de estas series se empleó como colorante la Floxina, y para la otra el Azul tripano, ambos en soluciones acuosas al 1 %. Por ser ambos colorantes vitales, las tinciones se hicieron sin fijación previa. En el examen microscópico estos cortes mostraron unos cuerpos de inclusión intracelulares de tipo amorfo, que se teñían bien con los colorantes anteriormente indicados. La epidermis de las hojas presentaba zonas en las cuales todas o casi todas las células contenían una o varias inclusiones de este tipo, habiendo también otra zonas, generalmente menos próximas a las venas, en las cuales estos cuerpos de inclusión eran menos frecuentes.

El aspecto de los cuerpos amorfos encontrados en esta enfermedad es de unas masas de estructura granular, de forma redondeada u ovalada, presen-

tándose en algunos casos cuando están completamente formados de un tamaño mayor que los núcleos celulares, y contrariamente a lo que sucede con las inclusiones de este tipo en otras virosis vegetales, es muy rara la presencia de vacuolas en estos cuerpos que aparecen en masas granulares bastante compactas; con relativa frecuencia estos cuerpos se encuentran en contacto con los núcleos celulares. (Fotografías 2 a 4.)

Observando al microscopio los distintos estados de formación de estas inclusiones se ha visto cómo engloban mitocondrias y glóbulos de grasa que van adquiriendo durante su formación, la cual comienza al cabo de pocos días de quedar la planta infectada con el virus. (Fotografías 5 y 6.)

Estos cuerpos intracelulares se han observado con mayor frecuencia en las células próximas a los estomas y en las de los pelos de las hojas; la mayor cantidad de ellas se observaron en las zonas próximas al nervio principal.

Síntomas externos.

Todas las plantas conservadas en los invernaderos atacadas del d o c k m o s a i c empezaron a dar al cabo de poco tiempo unos síntomas externos de un tipo que no había sido encontrado en esta enfermedad. Estos consistían en unos crecimientos anormales de los tejidos en el envés de las hojas, los cuales empezaban por la formación de una especie de pequeñas crestas sobre las nerviaciones secundarias, de unos 5 a 7 mm. de largo; en el centro de estas crestas comenzó al cabo de pocos días un crecimiento más intenso, hasta formar unas protuberancias rectas y cilíndricas, de un color algo más claro que el resto de la hoja, y de un tamaño aproximadamente de 1/2 mm. de ancho por unos 4 a 5 mm. de largo, de punta roma y algo ensanchadas por su base. Estas anormalidades se presentaban con más frecuencia en la parte del limbo próxima al ápice de la hoja que en las zonas próximas a la base. (Fotografías 7 a 9.)

La formación de estos crecimientos en las hojas de las plantas es ocasionada por algunos otros virus vegetales, pero solamente sobre determinadas plantas; hasta ahora han sido citadas el tomate, pepino, tabaco y alguna otra especie del género N i c o t i a n a.

OBSERVACION DE LOS CUERPOS DE INCLUSION EN EL MICROSCOPIO ELECTRONICO

Los cuerpos amorfos anteriormente descritos pudieron ser extraídos del interior de las células por dislaceración de los tejidos; después de haberlos lavado

por sucesivos pases en agua destilada se hizo, por medio de una micropipeta, una suspensión de ellos en una pequeña cantidad de agua destilada.

Para la observación con el microscopio electrónico estos cuerpos resultaban demasiado gruesos, por lo cual fué necesario operar con fracciones de ellos, que se lograron fácilmente en las operaciones llevadas a cabo para su aislamiento. Una gota de la suspensión en agua destilada fué depositada por medio de una micropipeta sobre una membrana de colodión, haciéndose después las preparaciones de la forma usual para la observación en el microscopio electrónico. Una vez obtenidas, se las sometió a la técnica del sombreado con película metálica, empleándose para ello el paladio; después fueron examinadas con el microscopio electrónico R. C. A., modelo B, de Rothamsted. En estas observaciones se vió que los cuerpos amorfos producidos por este virus estaban formados por una agregación de partículas de material no identificado, que bien pudiera ser el virus mismo o agregaciones de protoplasma enfermo. (Fotografía 10.)

INOCULACIONES EXPERIMENTALES DE ESTE VIRUS SOBRE OTRAS PLANTAS

Se llevaron a cabo ensayos para transmitir experimentalmente esta enfermedad a plantas de *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana glutinosa* y remolacha, efectuando las inoculaciones con plantas sanas y jóvenes procedentes de semillero; como fuente de inóculo se utilizó una planta del género *Rumex* que presentaba síntomas muy marcados de la enfermedad; las plantas se conservaron en invernaderos libres de insectos. Para las inoculaciones se empleó como abrasivo la celita.

Ninguna de las plantas inoculadas en esta primera serie presentó síntoma alguno de infección.

Nuevamente se intentó la transmisión de esta enfermedad por nuevas inoculaciones a plantas de *Datura stramonium*, insistiendo también con nuevas inoculaciones a plantas de *Nicotiana tabacum*. El inóculo fué obtenido de las mismas plantas que nos habíamos servido anteriormente, empleando también la celita como abrasivo y dejando las plantas en las mismas condiciones que en el caso anterior.

Transcurridos veinte días aparecieron sobre una de las plantas de *Datura* inoculadas unas manchas amarillas sobre sus hojas, que hacían sospechar, por su aspecto, ser debidas a una infección de virus. Los tabacos de esta segunda serie de inoculación no presentaban síntomas.

DISCUSION

En las plantas de estas experiencias no se encontraron las inclusiones intracelulares de tipo cristalino que se presentan en numerosas virosis vegetales, y

que han sido descritas por Iwanoswsky con el nombre de material estriado. Este material estriado se encuentra en muchas ocasiones juntamente con las inclusiones de tipo amorfo en una misma planta infectada, y a veces en una misma célula, pero no se han visto en esta enfermedad. (Fotografías 11 y 12.)

Puesto que tanto las inclusiones de tipo cristalino, consideradas como formaciones del virus mismo, como las de tipo amorfo análogas a las aquí descritas dan las mismas reacciones de las proteínas, y visto el estado de transmisión de unas a otras que se ha descrito en algunas enfermedades, puede ser posible que los cuerpos extraños aquí descritos fuesen formaciones del virus en distinto estado de agregación. Si consideramos, por el contrario, estos cuerpos amorfos como formaciones protoplasmáticas, estarían entonces formados por un material completamente distinto al integrante de las inclusiones de tipo cristalino, siendo en este caso producto de una reacción de defensa celular a la infección del virus y no formaciones de la proteína virus en un estado de transición precristalino.

Estas nuevas manifestaciones externas e internas de la enfermedad sobre las plantas del género Rumex que aquí se describen, pudieran ser debidas a alguna modificación sufrida por el Rumex virus 1 ocasionada por causa desconocida en la planta de la que se tomó el primer inóculo, la cual hubiese dado lugar a alguna mutación de este virus de tipo más fuerte, siendo esta variante la causante de los nuevos síntomas externos y de la formación de inclusiones intracelulares. Puede suceder que dicha modificación tenga lugar cuando las plantas se encuentren en un medio ambiente distinto; esto coincidiría con el hecho de que las neoplasias de las hojas hayan sido solamente observadas en las plantas cultivadas en invernaderos, donde las condiciones de calor, humedad, etc., varían mucho respecto al exterior. No obstante, hay que hacer constar que todas las plantas sanas de la misma especie de las inoculadas que fueron dejadas como testigo en las mismas condiciones ambientales no presentaron en sus hojas ninguna anormalidad.

La confirmación de que este virus hubiese pasado a plantas de Datura en las inoculaciones anteriormente indicadas, no pudo ser lograda por haber terminado en aquellos días la beca que se disfrutaba en los laboratorios que se llevaron a cabo estas experiencias, quedando ello, por lo tanto, en espera de nuevas comprobaciones.

* * *

Quiero hacer constar mi agradecimiento al Dr. F. C. Bawden, de la «Rothamsted Experimental Station» (Inglaterra), por la ayuda e indicaciones recibidas durante la realización de este trabajo, así como a Mr. H. L. Nixon, de los mismos laboratorios, por la microfotografía obtenida con el microscopio electrónico.

RESUMEN

En este trabajo se da cuenta de unos nuevos síntomas externos y de unas inclusiones intracelulares hasta ahora no descritos sobre plantas del género Rumex atacadas por el Rumex virus 1. Se han llevado también a cabo las primeras observaciones de este virus con el microscopio electrónico. Intentando también la transmisión de este virus a otras plantas de diferentes familias por inoculación mecánica, obteniendo algunos resultados que parecen indicar que este virus se transmite a plantas de Datura stramonium, pero esto último no pudo confirmarse con seguridad.

SUMMARY

In this paper the author report on some new external symptons and intercellular inclusions of plants belonging to the Rumex species which were attacked by the Rumex virus 1. These symptoms has not been described so far. Observations with the electronic microscope of this virus were carried out. It was intented to transmit this virus to plants of different species by means of mechanic inoculation. Some of the results seam to indicate that it can be transmitted to Datura stramonium plants, but this could not be proved definitely.

LITERATURA CITADA

(1) **GRAINGER** and **COCKERHAM.** 1930. **Proc. Leeds. Phil. Soc.**

(2) **SMITH, K. M.** 1937. A Text Book of Plant Virus Diseases. London.

(3) **CHAMBERLAIN, E. E.** and **MATTHEWS, R. E. F.** New Zealand Journal of Science and Technology. Serie A, 29, 6, 286-291.

Foto 1.
Hojas mostrando el "Dock Mosaic" en plantas del género Rumex.

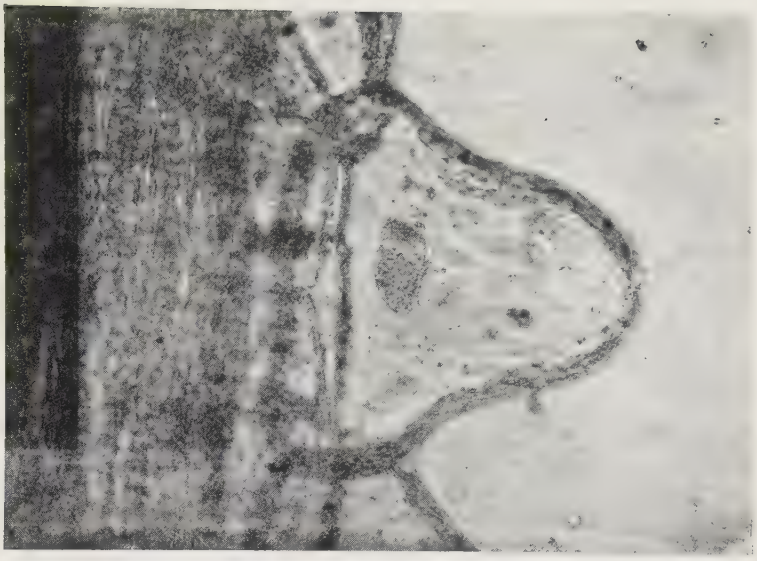


Foto 2.
Inclusión de tipo amorfo en el interior de un pelo de la planta del género Rumex, producida por el Rumex virus 1.

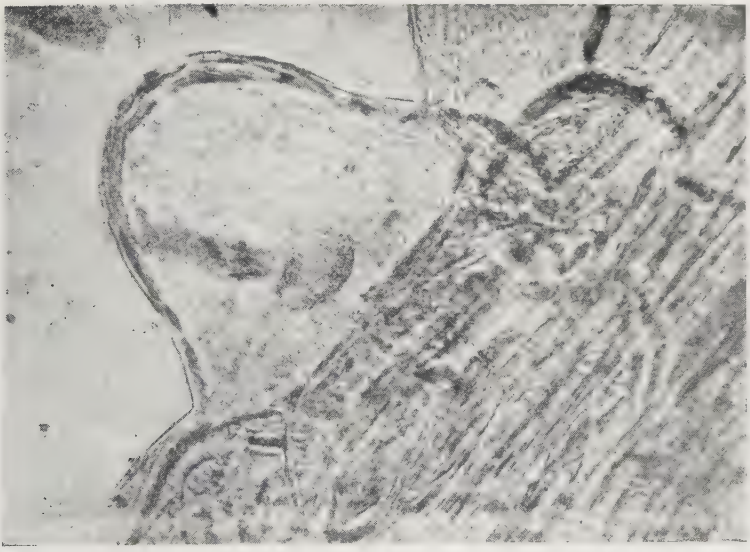


Foto 3.
Inclusión intracelular, en un pelo perteneciente a la planta de la fotografía anterior, en otro estado de formación.

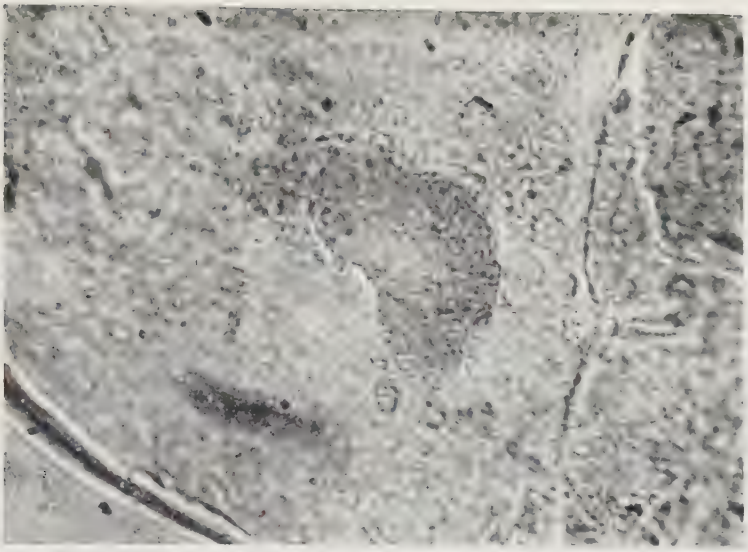


Foto 4.
Núcleo celular de una planta del género Rumex atacada por el Rumex virus 1, unido a una inclusión de tipo amorfo y en la cual puede apreciarse claramente su estructura granular.

Foto 5.
Corte epidérmico perteneciente a planta del género Rumex mostrando los primeros estados de formación de una inclusión intracelular de tipo amorfo. Puede apreciarse el núcleo celular con su nucléolo, los plastos y mitocondrias.

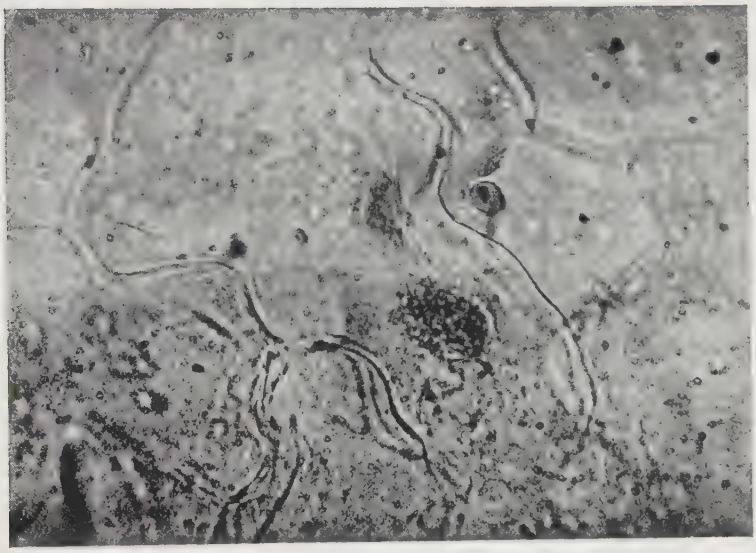


Foto 6.

Corte epidérmico perteneciente a otra hoja de la misma planta de la fotografía número 5, en el cual aparece una inclusión intracelular de tipo amorfo casi completamente formada. En la parte superior aparece el núcleo.

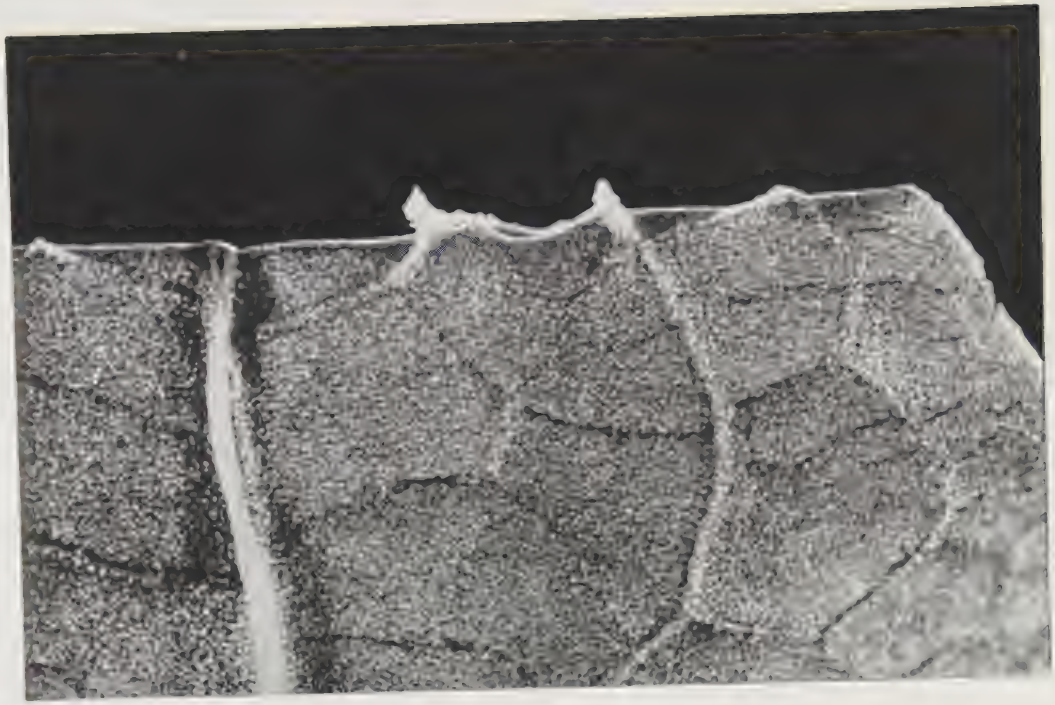


Foto 7.
Crecimientos anormales originados sobre las venillas en el envés de una hoja de planta del género Rumex infectada por el Rumex virus 1.

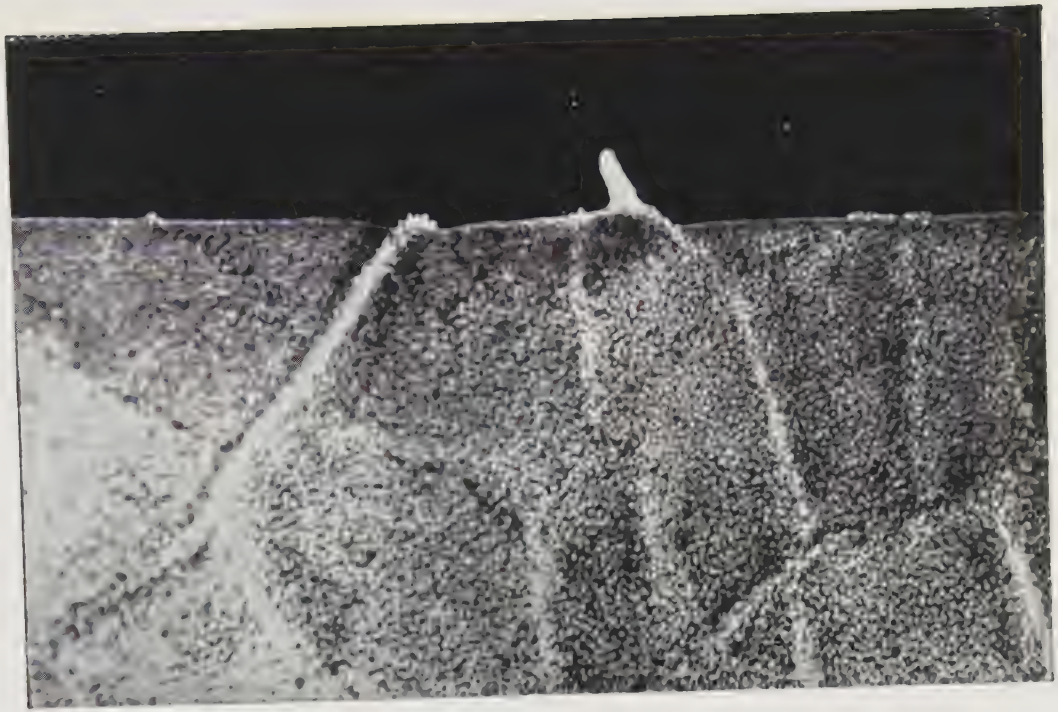
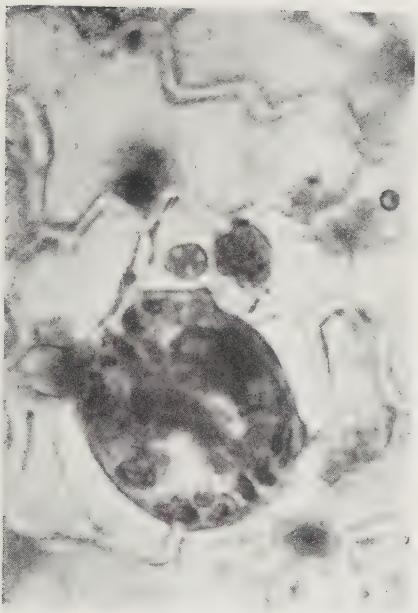


Foto 8.

Hoja de planta del mismo género que la de la fotografía número 1, atacada también por la misma enfermedad, mostrando una de los crecimientos anormales en fase más avanzada.

Foto 9.
Envés de una hoja de planta del género Rumex en la cual se aprecian los puntos donde se inician los crecimientos anormales producidos por la virosis.

Foto 10.
Microfotografía obtenida con el microscopio electrónico R. C. A. modelo B. de un cuerpo amorfo producido por el Rumex virus 1. (72.000 aumentos.)



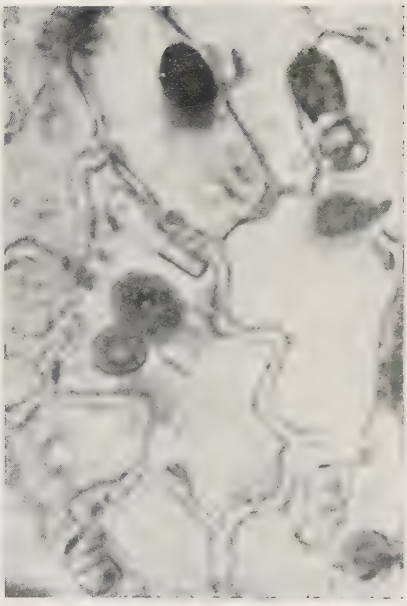


Foto 11. *Foto 12.*

Células epidérmicas de planta de tabaco atacada por el Nicotiana virus 1, mostrando en su interior inclusiones de tipo amorfo y cristalino.

INFORMACION

NUEVO REPRESENTANTE ESPAÑOL EN LA A. I. M.

Para ocupar la vacante producida por la muerte del Prof. Juan Marcilla en la Comisión Internacional Permanente de la Asociación Internacional de Microbiólogos ha sido designado el actual Presidente de la Sociedad de Microbiólogos Españoles, Dr. don Antonio Ruiz Falcó.

VI CONGRESO INTERNACIONAL DE PATOLOGIA COMPARADA

Del 4 al 11 de mayo del año 1952 se proyecta celebrar en Madrid este Congreso, en homenaje a Santiago Ramón y Cajal. El Comité Internacional Permanente de los Congresos de Patología Comparada está presidido por el Prof. Binet, de París. La Comisión organizadora y Mesa del Congreso está constituída de la siguiente forma:

Presidente, Prof. Enríquez de Salamanca; Vicepresidentes: Prof. Jiménez Díaz (Presidente de la Comisión de Patología Humana), Prof. Carda Gómez (Presidente de la Comisión de Patología Animal) y Prof. Jordán de Urríes (Presidente de la Comisión de Patología Vegetal); Tesorero, Prof. Benlloch Martínez; Secretario general, Prof. Carda Aparici; Vicesecretarios: Dr. Perianes-Carro, Dr. Lahoz-Navarro, señor Sánchez Garnica y señor Enríquez de Salamanca (M.).

Los temas generales para las ponencias son los siguientes:

1. Papel de los hongos y las micosis en Patología Comparada.
2. Los oligoelementos y sus carencias en Patología Comparada.
3. Los factores de senectud en Patología Comparada.
4. Simbiosis microbianas y sus alteraciones en Patología Comparada.
5. Los insecticidas de contacto en Higiene General y Patología Comparada.

Para informes dirigirse a la Secretaría General del Consejo, calle de Fernando VI, núm. 8. Madrid.

II CONGRESO INTERNACIONAL DE BIOQUIMICA

Este Congreso tendrá lugar en París del 21 al 27 de julio del año 1952. Es Presidente de Honor del mismo el Prof. Gabriel Bertrand y Presidente efectivo el Decano René Fabre, Presidente Honorario y Secretario general, respectivamente, de la Sociedad de Química Biológica. Entre los temas bioquímicos de actualidad se han elegido siete, que serán objeto de estudio en otros tantos s y m p o s i u m s. Son los siguientes:

1. Bioquímica de la hematopoyesis.
2. Biogénesis de las proteínas.
3. Ciclo tricarboxílico.
4. Hormonas proteicas y derivadas de las proteínas.
5. Metabolismo microbiano.
6. Modo de acción de los antibióticos.
7. Bioquímica de los esteroides.

Además de los s y m p o s i u m s citados, se celebrarán otras reuniones para tratar de aquellos trabajos que se ocupen de temas diferentes a los anteriores y conferencias generales sobre grandes problemas bioquímicos.

El Secretario general del Congreso es el Prof. J. E. Courtois, Faculté de Pharmacie, 4. Avenue de l'Observatoire, Paris (VI^{e}).

ACTAS DE LA SOCIEDAD

M A D R I D

Acta de la sesión celebrada el día 23 de febrero de 1951.

Bajo la presidencia de don Gerardo Clavero del Campo se abre la sesión, a las diecinueve y treinta, en una de las Salas de Juntas de los locales del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, sitos en Medinaceli, 4.

Se aprueba el acta de la sesión anterior. El señor Ovejero del Agua da cuenta de su trabajo «Corynebacterium renale, Migula (pielonefritis bovina»). El señor Vilas presenta una comunicación de los señores Callao y Vigaray sobre el tema «Flora aerobia de la fermentación en el enriado experimental del esparto».

El señor Presidente da cuenta de que va a celebrarse el escrutinio de los votos secretos recibidos para la renovación reglamentaria de la Junta. Se procede a efectuar el recuento, que da los siguientes resultados: Presidente, don Antonio Ruiz Falcó, 96 votos; don Florencio Bustinza Lachiondo, 1 voto. Vicepresidente, don Gerardo Clavero del Campo, 97 votos. Secretario, don Lorenzo Vilas López, 96 votos; don Manuel Jordán de Urríes, 1 voto. Vocales: don Jenaro Alas Cores, 94 votos; don Gabriel Colomo de la Villa, 97 votos;

don Rafael Ibáñez González, 1 voto; don Emilio Luengo Arroyo, 95 votos; don Gabriel Megías Boix, 1 voto; don Florencio Moreno de Vega, 95 votos; don Luis Gonzalo Urgoiti Somovilla, 1 voto; don Juan Santa María Ledochowski, 1 voto; don Arnaldo Socías Amorós, 3 votos.

A la vista de los resultados anteriores quedan elegidos los señores siguientes: Presidente, don Antonio Ruiz Falcó; Vicepresidente, don Gerardo Clavero del Campo; Secretario, don Lorenzo Vilas López. Vocales: don Genaro Alas Cores, don Gabriel Colomo de la Villa, don Emilio Luengo Arroyo y don Florencio Moreno de Vega.

En consecuencia queda constituída la Junta Directiva de la manera siguiente: Presidente, don Antonio Ruiz Falcó; Vicepresidente, don Gerardo Clavero del Campo; Secretario, don Lorenzo Vilas López; Tesorero, don Miguel Benlloch Martínez; Bibliotecario, don Ricardo Salaya León; Vocales: don Genaro Alas Cores, don Gabriel Colomo de la Villa, don Eduardo Gallardo Martínez, don José García Bengoa, don Rafael Ibáñez González, don Emilio Luengo Arroyo, don Florencio Moreno de Vega y don Arnaldo Socías Amorós.

En ruegos y preguntas, el señor Blanco Díez del Valle dedica un recuerdo elogioso al que fué miembro de la Sociedad don Victoriano Colomo y Amarillas, fallecido en el mes anterior, y pide que se dedique un homenaje a su memoria. El señor Clavero se muestra de acuerdo con lo expuesto por el señor Blanco y propone una Comisión para dicho objeto, designándose a los señores García Bengoa y Gallardo. El señor Colomo de la Villa agradece cordialmente las manifestaciones de afecto dedicadas a la memoria de su padre.

Y no habiendo más asuntos que tratar, se levanta la sesión.

Acta de la sesión celebrada el día 14 de mayo de 1951.

Bajo la presidencia de don Antonio Ruiz Falcó se abre la sesión, a las veinte horas, en una de las Salas de Juntas de los locales del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, sitos en Medinaceli, 4.

Se lee y aprueba el acta de la sesión anterior. El señor Presidente dirige un saludo a los socios, ofreciéndose cordialmente a todos en su cargo, y dedica un sentido recuerdo a la memoria de su antecesor y primer Presidente que fué de la Sociedad, don Juan Marcilla Arrazola.

El señor Socías, en nombre propio y en el de su colaborador señor Sierra, da lectura a una comunicación acerca de «El factor de transformación moho-bacteria», a la que hacen objeciones los señores Ibáñez y Zugaza, contestándoles el comunicante. A continuación, el señor Socías presenta una comunicación propia sobre «De la metilación orgánica como factor de transformación moho-bacteria y su papel en la etiología microbiana del tracoma». El señor Ibáñez pide algunas aclaraciones sobre identificación de las bacte-

rias que obtiene en sus experiencias el comunicante, prometiendo éste contestarlas en plazo breve.

El señor Varela lee su trabajo «Valoración polarográfica del Cloramfenicol».

Y no habiendo más asuntos que tratar, se levanta la sesión a las veintiuna y treinta horas.

BIBLIOGRAFIA

INDICE DE ARTICULOS DE REVISTAS

Bajo este epígrafe se efectúa la publicación sistemática, por orden cronológico, de los títulos de los trabajos que han aparecido en los últimos años en las principales revistas microbiológicas. En este número se recogen los títulos correspondientes al tomo 72 (1946) de **Annales de l'Institut Pasteur** (Biblioteca del Instituto de Edafología, I. E.).

Mediante convenio con el Servicio de Microfilm del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, la Sociedad puede facilitar a los señores socios reproducciones de los artículos que deseen, para lo cual bastará escribir al Secretario de la Sociedad, Serrano, 113, Madrid, precisando el número en negrita que encabeza el artículo cuya copia se solicita.

Los precios y condiciones se detallan al final de esta Sección.

2.106

PREVOT (A. -R.).—1946. Etudes de systématique bactérienne. VII. Actinomycetales. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 2-11. I. E.

2.107

GUILLAUMIE (Maylis), KREGUER (A.) et **FABRE (M.).**—1946. Proprietés et composition de la toxine de Welchia perfringens. I. Action hémolytique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 12-37. I. E.

2.108

LASFARGUES (E.) et **DELAUNAY (A.).**—1946. Cultures de tissus appliquées à la solution de problèmes immunologiques. I. Etude du pouvoir nécrosant des toxines microbiennes in vitro. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 38-43. I. E.

2.109

MILLET (M.), BOLLE (A.) et **HIRSCHE (A.).**—1946. Apparition de souches à colonies naines chez des malades atteints de salmonelloses. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 44-52. I. E.

2.110

GORET (Pierre).—1946. Adsorption du virus de la maladie de Carré sur hydroxyde d'aluminium. Action sur le complexe de la dessication après congélation. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 53-57. I. E.

2.111

STAUB (A. -M.), PRUDHOMME (R. -O.) et GRABAR (P.).—1946. Recherches immunochimiques sur la bactéridie charbonneuse. V. Les nucléoprotéides. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 58-66. I. E.

2.112

POLONOVSKI (Jacques), FAURE (Marguerite) et MACHEBŒUF (Michel).—1946. Délipidation des anticorps et zone de floculation. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 67-72. I. E.

2.113

WALH (R.).—1946. Influence de la composition du milieu sur la bactériophagie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 73-80. I. E.

2.114

NICOLLE (P.), GRABAR (J.) et GIBERT (P.). —1946. Fréquence de la lysogénéité et moindre fréquence apparante de la lysosensibilité parmi les bacilles paratyphiques B. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 81-88 I. E.

2.115

ROUYER (Marcel) et LATARJET (Raymond).—1946. Augmentation du nombre de bacteriophages en présence de bactéries stérilisées par irradiation. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 89-94. I. E.

2.116

DESCHIENS (R.) et LAMY (L.).—1946. Etude morphologique des Giardia du mouton et des ruminants. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 95-104. I. E.

2.117

BOVET (D.), BABLET (J.) et FOURNEL (J.).—1946. Aminothiazol et thyroïde. Recherches expérimentales sur la thérapeutique chimique des thyréotoxicoses. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 105-125. I. E.

2.118

BERTRAND (Gabriel).—1946. Sur l'origine multiple du magnésium contenu dans l'eau de pluie (I.). **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 126-134. I. E.

2.119

BONET-MAURY (P.) et PERAULT (R.).—1946. Etude, par enregistrement photométrique, du mode d'action de la corylophyline et de la pénicilline (suite et fin). **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 135-139. I. E.

2.120

BOIVIN (André) et DELAUNAY (Albert).—1946. Peut-on, en matière d'antigène o des bactéries, distinguer de façon absolue haptènes et antigènes «complets»? **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 139-143. I. E

2.121

BOIVIN (André).—1946. Sur la constitution chimique des antigènes o des bactéries. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 143-146. I. E.

2.122

MAGROU (J.) et MARNEFFE (H.).—1946. Action de l'aneurine sur la fructification d'un champignon du groupe des stilbacées. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 147-149. I. E.

2.123

BROWAEYS (J.).—1946. Essai de micromanipulation chimique colorimétrique (salicylate, sulfamides). **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 149-153. I. E.

2.124

GRELET (Norbert).—1946. Culture du Bacillus megatherium en milieu synthétique glucosé. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 153-156. I. E.

2.125

SOLOMIDES (J.).—1946. Pouvoir pathogène des cultures tuberculeuses du type humain et bovin additionnées d'huile d'arachide. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 156-160. I. E.

2.126

BORDET (Jules) et BORDET (Paul).—1946. Bactériophagie et variabilité microbienne. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 161-173. I. E.

2.127

LEPINE (P.) et SAUTTER (V.).—1946. Etude histochimique des lésions dues aux ultravirus. Les acides nucléiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 174-183. I. E.

2.128

COTONI (L.), FORGEOT (P.) et THIEULIN (G.).—1946. Sur les streptocoques des mammites bovines. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 184-202. I. E.

2.129

WELSCH (Maurice), DEMELENNE-JAMINON (G.) et THIBAULT (J.).—1946. Recherches sur les corynébactéries de l'homme. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 203-215. I. E.

2.130

LEGROUX (R.) et LEVADITI (Jean-C.).—1946. Sur la sérothérapie de l'intoxication botulique expérimentale du cobaye. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 216-221. I. E.

2.131

OLIVIER (H. R.) et BONET-MAURY (P.).—1946. Action comparée de la chaleur et de l'irradiation α sur le pouvoir antigénique et les propriétés du bacille typhique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 222-229. I. E

2.132

BLASS (Judith).—1946. Etude de la consommation du glucose par les vibrions cholériques «non proliférants». **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 230-240. I. E.

2.133

DEINSE van (F.).—1946. Une souche de bacille tuberculeux de type bovin difficile à classer. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 241-263. I. E.

2.134

FUNKE (A.), BOVET (D.) et MONTEZIN (G.).—1946. Quinoléines a chaine latérale arylaliphatique douées de propriétés antimalariques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 264-274. I. E.

2.135

SANDOR (G.).—1946. Le déterminisme physique et la vie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 275-277. I. E.

2.136

WAHL (R.).—1946. Modification profonde (mutation?) d'un staphylocoque sous l'influence du bactériophage. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 277-282. I. E.

2.137

SANDOR (G.) et PEREZ (J. J.).—1946. Antitoxines et proantitoxines. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 282-284. I. E.

2.138

WAHL (R.).—1946. Quelques précision au sujet de l'action de la lumière sur les bactériophages. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 284-287: I. E.

2.139

WAHL (R.).—1946. Action de sublimé sur les bactériophages. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 287-289. I. E.

2.140

WAHL (R.), NITTI (F.) et FAGUET (M.).—1946. Relations entre la lyse bactériophagique et la multiplication microbienne étudiees à l'aide des sulfamides (1162 F.). **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 290-293. I. E.

2.141

NITTI (F.), CONGE (M.) et KAUFFMANN (G.).—1946. Traitment du sodoku expérimental du cobaye par de faibles doses de pénicilline (suite et fin). **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 294-295. I. E.

2.142

LAMY (L.).—1946. Action de para-amonophénylsulfamide (1162 F.) sur le départ des cultures d'Entamœba-dysenteriæ. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 295-297. I. E.

2.143

PREVOT (A. R.).—1946. Position de Haverhillia moniliformis (L. N. P.) nouvelle combinaison, dans la systématique bactérienne. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 297-300. I. E.

2.144

ARRAGON (G.), MAINIL (J.), REFAIT (R.) et VELU (H.).—1946. La flavinogénèse par Eremothecium ashbyii. — Etude du facteur surface/volume. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 300-305. I. E.

2.145

BERGHE (Louis van den).—1946. Recherches d'acide ribonucléique dans les inclusions amariles. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 306-307. I. E.

2.146

KREIS (B.).—1946. Action d'un anti-histaminique de synthése sur l'allergie tuberculeuse du cobaye. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 308-313. I. E.

2.147

PIROT (R.), BOURGAIN (M.) et BADRE (R.).—1946. Etude différientielle des caractères toxiques et antigéniques des extraits trichloracétiques de souches mobiles et immobiles d'alcaligenes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 314-318. I. E.

2.148

SANDOR (G.).—1946. Le deuxième principe de la thermodynamique et la vie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 318-320. I. E.

2.149

BORDET (Jules) et BORDET (Paul).—1946. Bactériophagie et variabilité microbienne (suite). **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 321-334. I. E.

2.150

WELSCH (Maurice), DEMELENNE (G.) et THIBAULT (J.).—1946. Recherches sur les corynebactéries de l'homme (suite). **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 335-346. I. E.

2.151

PRUDHOMME (R. O.), ROUYER (M.) et STAUB (A. -M.).—1946. Spectre d'absorption des microbes dans l'ultraviolet. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 347-360. I. E.

2.152

KREIS (B.).—1946. Chimiothérapie associée a la désensibilisation en tuberculose expérimentale. II. Action du amino-benzène sulfonyl thiourée associé a la tuberculine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 361-364. I. E.

2.153

ANDREJEW (A.).—1946. Contribution a l'étude du métabolisme respiratoire des bacilles paratuberculeux. I. Métabolisme respiratoire du bacille de la fléole. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 365-376. I. E.

2.154

KOLOCHINE-ERBER (B.) et RAFFY (A.).—1946. Température du singe au cours de la poliomélite expérimentale. Dosage de la vitamine B_2 dans quelques organes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 377-383. I. E.

2.155

GUILLAUMIE (Maylis), KREGUER (A.) et FABRE (M.). -1946. Propriétés et composition de la toxine de Welchia perfringens. II. Action léthale —effet nécrosant— activité enzymatique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 384-415. I. E.

2.156

BERTRAND (Gabriel) et BERTRAND (Didier).—-1946. Sur la présence générale du rubidium chez les plantes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 416-423. I. E.

2.157

DEINSE (F. van).—1946. Dissociation d'une souche de bacilles tuberculeux virulents de type bovin «dysgonique» en une variante avirulente également «dysgonique» et une variante virulente «eugonique» après séjour prolongé dans un liquide pleural de cobaye (suite et fin). **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 424-426. I. E.

2.158

GASTINEL (P.), FASQUELLE (R.) et ARNAUD (P.).—1946 L'action dissemblable des facteurs de diffusion a l'égard de l'épithélioma ou du neuro-virus vaccinal. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 427-429. I. E.

2.159

GASTINEL (P.) et BROCARD (H.).—1946. Du comportement des cobayes tuberculeux désensibilisés a la tuberculine à l'égard du phénomène de Koch. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 429-432. I. E.

2.160

BONET-MAURY (P.) et FRILEY (M.).—1946. Action des rayons X sur le virus de la fièvre aphteuse et la vaccine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 432-437. I. E.

2.161

LAPORTE (R.) et HARDRE DE LOOZE (L.).—1946. Sur l'utilisation pratique des microméthodes en sérologie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 437-439. I. E.

2.162

SOHIER et GIRIER (L.).—1946. Essais de différenciation des agglutinines anti-mouton apparues au cours de la mononucléose infectieuse et après sérothérapie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 439-440. I. E.

2.163

CORRE (Lucienne).—1946. Réactions locales produites par le BCG inoculé par scarifications chez les malades tuberculeux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 441-444 I. E.

2.164

PREVOT (A. -R.) et WEISLITZ (M.).—1946. Recherches sur les caractères culturaux et biochimiques de plectridium saprogenes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 444-446. I. E.

2.165

VIEUCHANGE (J.).—1946. Entretien d'une souche de virus poliomyélitique adapté à la souris blanche (souche Lansing). **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 446-450. I. E.

2.166

PREVOT (A. R.) et TAFFANEL (J.).—1946. Action de certains corps sur la fermentation de quelques bactéries anaérobies. I. Colorants. II. Vitamines. III. Métaux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 450-453. I. E.

2.167

PARAF (Jean), DESBORDES (Jean) et LOUBRY (Geneviève).—1946. Réaction de la déviation du complément avec des sérums de tuberculeux par un antigene entièrement synthétique: Acide gras αα-dissubstitué. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 453-456. I. E.

2.168

MARCHAL (Gustave) et DESOSOUX (Eliane).—1946. Au sujet du cycle évolutif d'endococcus moriformis nv. sp. Pinoy, 1941. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 456-458. I. E.

2.169

DELAUNAY (A.) et PAGES (J.).—1946. Complément et tactisme leucocytaire. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 458-461. I E.

2.170

BUU-HOI et JOUIN (J. -P.).—1946. Sur les propriétés antituberculeuses de combinaisons d'acides gras du bacille de Koch avec une protéine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 461-463. I. E.

2.171

STEFANOPOULO (G. J.) et VIEUCHANGE (J.).—1949. Réceptivité du singe callitriche (Aethiops sabaeus) à la souche «Lansing» de virus poliomyélitique entretenue sur la souris. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 463-468. I. E.

2.172

MERCIER (P.) et LEHOULT (Y.).—1946. La culture du staphylocoque et sa toxinogénès sur un milieu a base d'acides aminés. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 468-470. I. E.

2.173

PREVOT (A. -R.).—1946. Méthode de titrage rapide de la pénicilline par inhibition du pouvoir réducteur de W. perfringens sur le vert-janus. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 471-472. I. E.

2.174

WAHL (R.).—1946. Dissociation du B. megatherium. Rôle de la composition du milieu. Action du bactériophage sur les variantes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 473-478. I. E.

2.175

BOQUET (Paul).—1946. Sur l'action dépressive du venin de Bitis arietans. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 478-480. I. E.

2.176

LEGROUX (R.) et LEVADITTI (Jean-C). -1946 Degré d'inhibition du pouvoir pathogène des toxines botuliques après contact avec la substance nerveuse. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 480-484. I. E.

2.177

BLANC (Georges) et BALTAZARD (Marcel).—1946. Virulence des déjections de puces pesteuses. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 486-489. I. E.

2.178

MARTIN (L. A.).—1946. L'anémie infectieuse des équidés. V. Passage accélérés du virus par un organisme sensible. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 489-491. I. E.

2.179

PREVOT (A. R.) et ENESCU (M.).- -1946. Nouveau cas de charbon symptomatique causé par clostridium septicum. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 491-492. I. E.

2.180

NABONNE (A.).—1946. A propos des infections inapparentes a salmonella. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 493-496. I. E.

2.181

BONET-MAURY et PERAULT (R.).—1946. Enregistrement photométrique du mode d'action de l'association dagénan-pénicilline. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 496-499. I. E.

2.182

VERGE (J.), GORET (P.) et MERTEUX (Ch.).—1946. Nouvelle note sur la conservation de quelques ultravirus par la dessiccation. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 499-500. I. E.

2.183

SERGENT (Edmond), DONATIEN (A.) et PARROT (L.).—1946. Sur quelques questions de pathologie générale et de pathologie comparée soulevées par l'étude des piroplasmoses bovines. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 501-522. I. E.

2.184

LEPINE (P.), SAUTTER (V.) et REINIE (L.).—1946. Technique de la réaction d'agglutination des hématies pour le diagnostic de la grippe. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 523-533. I. E.

2.185

GRABAR (Pierre) et STAUB (Anne-Marie).—1946. Recherches immunochimiques sur la bacteridie charbonneuse. VI. Essais d'immunisation du cobaye par le liquide d'œdeme et ses fractions. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 534-544. I. E.

2.186

LEGROUX (R.), LEVADITTI (Jean C.) et LAMY (R.).—1946. Le botulisme expérimental du cheval et la question du botulisme naturel. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 545-552. I. E.

2.187

GUILLAUMIE (Maylis), KREGUER (A.) et FABRE (M.).—1946. Propriétés comparées des toxines élaborées par les différents types de Cl. perfringens. I. Etat actuel de la question. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 553-566. I. E.

2.188

DEINSE (F. van).—1946. Variabilité de la virulence d'une souche de bacilles tuberculeux biliés au cours de l'infection chez le cobaye. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 567-572. I. E.

2.189

PERDIGON (E.), BOUQUET (F.), MAZAUDIER (M. T.) et GODARD (F.).—1946. Influence antagoniste de l'asparagine et de l'acide cystéique sur la croissance du bacille tuberculeux humain. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 573-579. I. E.

2.190

JOUIN (J. P.) et BUU-HOI.—1946. De l'activité inhibitrice des représentants de quelques séries chimiques sur la pousse du bacille de Koch. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 580-606. I. E.

2.191

DELAUNAY (A.), VENDRELY (R.) et PAGES (J.).—1946. Les facteurs chimiques dans la genese des lésions tuberculeuses chroniques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 607-610. I. E.

2.192

ANDREJEW (A.).—1946. Contribution a l'étude de métabolisme respiratoire des bacilles paratuberculeux.—II. Métabolisme respiratoire de divers types des bacilles paratuberculeux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 611-620. I. E.

2.193

BERTRAND (Gabriel).—1946. Sur le potassium de l'eau de pluie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 621-630. I. E.

2.194

MACHEBOEUF (Michel) et VISCONTINI (Max).—1946. Etude des combinations entre protéides et cuivre.—II. Complexes prenant naissance en milieu alcalin. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 631-637. I. E.

2.195

CHAMPAGNE (Madeleine), VISCONTINI (Max) et MACHEBOEUF (Michel).—1946. Etude des combinaisons entre protéides et cuivre.—III. Complexes prenant naissance en milieu neutre: précipitation par le sulfate d'ammonium et mobilité électrophorétique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 638-643. I. E.

2.196

COHEN (Georges N.).—1946. La catalyse de l'oxydation de l'adrénaline par les molybdates. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 644-646. I. E.

2.197

MOREL (Madeleine) et MONOD (Jacques).—1946. Sur l'utilisation du saccharose par Proteus vulgaris. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 647-651. I. E.

2.198

GUILLAUMIE (Maylis), KREGUER (A.) et FABRE (M.).—1946. Remarques sur le titrage des sérums anti-perfringens A. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 651-656. I. E.

2.199

LEPINE (P.)—1946. Premières images biologiques obtenues avec un microscope électronique de construction française. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 656-657. I. E.

2.200

LEPINE (P.).—1946. A propos de symboles: centimètre cube ou millilitre? **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 658-659. I. E.

2.201

MERCIER (P.) et PILLET (J.).—1946. La toxinogénèse staphylococcique sur hydrolysat de viandre. Immunisation avec l'anatoxine dérivée de la toxine obtenue sur ce milieu. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 659-660. I. E.

2.202

BOQUET (Paul), GIRARD (Olivier) et CORVAZIER (René).—1946. Note sur la préparation des sérums antivenimeux (anti Vipera aspis, Cerastes cornutus et Bitis arietans). **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 660-662. I. E.

2.203

PREVOT (A. R.)—1946. Etude d'un nouvel anaérobie chromogène: Plectridium virens. n. sp. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 662-665. I. E.

2.204

SUREAU (Bernard), DEPIN (Françoise) et SCHURR (Odile). —1946. Titrage biologique de la pénicilline dans le sang et le liquide cephalo-rachidien en présence d'un indicateur de pH. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 665-667. I. E.

2.205

JOLY (M.).—1946. Remarques au sujet d'un article de M. Guillot sur la forme et les dimensions des bactéries. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 667-671. I. E.

2.206

SOHIER (R.), GREGOIRE (J.), ROULIN (G.). et BETHOUX (R.).—1946. Intéret du milieu d'enrichissement combiné de Kauffmann pour l'isolement des salmonella d'après une étude comparée de 420 coprocultures. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 671-673. I. E.

2.207

SOHIER (R.), GREGOIRE (J.), ROULIN (G.) et BETHOUX (R.).—1946. Valeur comparée de la gelose lactosée tournesolée et du milieu d'enrichissement et d'isolement de Kauffman pour le diagnostic des dysenteries bacillaires. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 673-677. I. E.

2.208

LAPORTE (R.), PEREZ (J. J.) et HARDRE DE LOOZE (L.).—1946. Sur les propriétés antigéniques de la réagine syphilitique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 678-681. I. E.

2.209

WAHL (R.), GRABAR (P.), ROUYER (M.) et BLUM-EMERIQUE (L.).—1946. Purification des bactériophages. I. Adsorption des protéides microbiens du lysat sur un précipité de phosphate de calcium. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 682-686. I. E.

2.210

NITTI (F.), BOYER (F.) et FAGUET (M.).—1946. Activité antibactérienne *in vitro* et *in vivo* de l'association «sulfamides-pénicilline». **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 687-689. I. E.

2.211

SOHIER (R.), JAULMES (Ch.) et ROULIN (G.). -1946. Agglutinabilité comparée de diverses suspensions de baciles typhiques utilisées pour la recherche des anticorps o en présence de sérum de malades et de lapins immunisés. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 689-691. I. E.

2.212

RAYNAUD (Marcel).—1946. Au sujet de la substance toxique neurotrope du bacille typhique (*Eberthella typhosa*). **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 691-695. I. E.

2.213

FORGEOT (P.).—1946. Présentotion d'un lapin atteint d'otite moyenne suppurée. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 696-697. I. E.

2.214

RENKONEN (K. O.).—1946. Sur quelques facteurs stimulants de croissance pour *Salmonella paratyphi* B. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 697-698. I. E.

2.215

TCHAN (Yao-Tseng).—1946. L'oxydation de l'acide benzoïque et la formation de «corps noir» dans le sol. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 699-700. I. E.

2.216

COMANDON (J.), FONBRUNE (P. de) et VELU (H.).—1946. Perfectionnement aux techniques d'isolement des microorganismes par micromanipulation. Application aux spores de pénicillium. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 701-703 I. E.

2.217

MARTIN (Louis) (1864-1946).—1946. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 705-707. I. E.

2.218

GIRARD (G.).—1946. L'association pneumocoque-bacille de Yersin «in vitro et in vivo». **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 708-718. I. E.

2.219

BONNEFOI (A.) et GRABAR (J.).—1946. Diagnostic biologique des infections à Salmonella.—I. Le diagnostic sérologique des souches de Salmonella. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 719-744. I. E.

2.220

GRABAR (J.) et BONNEFOI (A.) -1946. Diagnostic biologique des infections à Salmonella.—II. Le séro-diagnostic. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 745-765. I. E

2.221

CARLINFANTI (E.).—1946. Progrès récents dans l'étude des antigènes et des anticorps typhoidiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 767-782. I. E.

2.222

SCHAEFER (W.).—1946. Recherches sur deux polyosides de spécificité différente existant dans les filtrats de culture des bacilles tuberculeux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 783-797. I. E.

2.223

ANDREJEW (A.)—1946. L'autolyse du bacille de la fléole. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 798-804. I. E

2.224

BERTRAND (Gabriel) et BERTRAND (Didier).—1946. Sur la présence generale du rubidium chez les animaux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 805-809. I. E.

2.225

BERTRAND (Gabriel).—1946. Sur un processus de défense du milieu habité par des espèces vivantes à l'aide d'une substance toxique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 810-813. I. E.

2.226

GUILLAUMIE (Maylis), KREGUER (A.) et FABRE (M.)—1946. Nouvelles recherches sur le titrage des sérums antivibrion septique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 814-818. I. E.

2.227

GUILLAUMIE (Maylis), KREGUER (A.) et FABRE (M.).—1946 Propriétés des sérums anti-histolytiques. Antigènes élaborés par différentes souches de Cl. histolyticum et de Cl. septicum. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 818-823. I. E.

2.228

POCHON (J.) et TCHAN (Y. T.).—1946. Nutrition carbonée des fixateurs d'azote et symbiose bactérienne. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 824-825. I. E.

2.229

TCHAN (Yao-Tseng).—1946. La benzoatase des Azotobacter. L'acide salicylique, terme intermédiaire de l'oxydation de l'acide benzoïque. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 826-827. I. E.

2.230

LASFARGUES (E.) et **DELAUNAY (A.).**— 1946. Cultures de tissus appliquées à la solution de problèmes immunologiques.—II. Etude d'un sérum antileucocytaire. Mécanisme de son action in vitro. Contribution à l'étude des phénomènes anaphylactiques en cultures de tissus. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 828-832. I. E.

2.231

RAYNAL (J. H.) et **LIEOU (Y. Ch.).**—1946. Vaccin antirabique phéniqué à base de substances nerveuses autres que celles du lapin. Disparition des incidents de choc. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 832-833. I. E.

2.232

ANDREJEW (E.).—1946. Sur la décomposition de l'eau oxygénée par le bacille de Koch. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 833-835. I. E.

2.233

LESSIAU (Jacques).—1946. Etude de la précision des méthodes de titrage de la pénicilline. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 835-839. I. E.

2.234

LISBONNE (Marcel) (Nécrologie).—1946. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 839-840. I. E.

2.235

PREVOT (A. R.), PEYRE (M.) et **DIGEON (M.).**—1946. Modification de la méthode de titrage rapide de la pénicilline. Bilan d'écarts individuels. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 840-842. I. E.

2.236

LOISELEUR (J.), PEREZ (J. J.) et **SERGENT (C.).**—1946. Renseignements fournis par les techniques de floculation et de viscosité sur la formation des anticorps. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 843-847. I. E.

2.237

MARMIER (Louis) (1865-1944).—1946. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 849-851. I. E.

2.238

TROISIER (Jean) (1881-1945).—1946. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 851-855. I. E.

2.239

WOLLMAN (Eugène).—1946. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 855-858. I. E.

2.240

SARCIRON (René) (1906-1946).—1946. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 859-860. I. E.

2.241

METÁLNIKOV (Serge) (1870-1946).—1946. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 860-861. I. E.

2.242

GIRARD (G.) et **NEEL (R.)** avec la collaboration de **CHEVALIER (A.).**—1946. Le comportement du bacille pesteux ensemencé en anaérobiose et ses applications pratiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 862-867. I. E.

2.243

MONOD (J.) et **AUDUREAU (A.).**—1946. Mutation et adaptation enzymatique chez Escherichia coli mutabile. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 868-878. I. E.

2.244

MONOD (Jacques).—1946. Sur une mutation spontanée affectant le pouvoir de synthèse de la méthionine chez une bactérie coliforme. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 879-890. I. E.

2.245

ANDREJEW (A.).—1946. Sur la végétation du bacile de Koch en profondeur. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 891-907. I. E.

2.246

GUILLAUMIE (Maylis), KREGUER (A.) et **FABRE (M.).**—1946. Antigènes des toxines perfringens A, B, C et D. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 908-930. I. E.

2.247

LOISELEUR (J.), LEVY (M.) et **SUREAU (B.).**—1946. Sur les réactions sériques consécutives à l'administration de pénicilline. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 931-940. I. E.

2.248

LAPORTE (R.).—1946. Rôle du système ganglionnaire lymphatique dans l'allergie tuberculinique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 941-945. I. E.

2.249

DELAUNAY (Albert), PAGES (Jacqueline) et MAURIN (Michel).—1946. Le métabolisme respiratoire des leucocytes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 946-951. I. E.

2.250

BEQUIGNON (R.) et VIALAT (Ch.).—1946. Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1945. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 952-954. I. E.

2.251

WAHL (R.).—1946. Action discontinue des diastases protéolytiques. Application à leur titrage. (Suite et fin.) **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 955-958. I. E.

2.252

WAHL (R.) et BLUM-EMERIQUE (L.).—1946. Conservation du bactériophage et potentiel d'oxydo-réduction. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 959-964. I. E.

2.253

SOHIER (R.) et PIERRE (S.).—1946. Technique rapide et économique de diagnostic sérologique de la mononucléose infectiuese. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 964-966. I. E.

2.254

BONET-MAURY (P.).—1946. Etude du titrage de la pénicilline. Méthode des dilutions. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 966-974. I. E.

2.255

LOGHEM van (J. J.).—1946. La clasification du bacile pesteux (Yersinia gen. nov.) **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 975. I. E.

2.256

LOGHEM van (J. J.).—1946. Le vibrion El Tor isolé à la Mecque. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 975-977. I. E.

2.257

LOGHEM van (J. J.).—1946. Le Proteus anindologenes et son facteur X. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 976-977. I. E.

2.258

LOGHEM van (J. J.).—1946. Le staphylocoque doré dans le nez sain et les agglutinines naturelles. **Annales de l'Institut Pasteur.** 72: 978-980. I. E.

Fotocopias en microfilm.

Microfilm negativo: 1 peseta cada fotograma (24 × 36 mm.).

Microfilm positivo (indicado cuando hay fotograbados): 2 pesetas cada fotograma.

Carpeta «Filmoteca» para diez filmofichas: 2 pesetas.

Mínimo pagable en todo encargo: el valor de una filmoficha, 5 pts. en negativo y 10 pts. en positivo.

A partir de 1.000 fotogramas, precios especiales por convenir.

Opciones que se presentan: en negativo o en positivo; en rollo continuo o en filmofichas; con carpeta «Filmoteca» o filmofichas sueltas; metiendo en cada fotograma dos páginas o solo una.

Salvo aviso en contrario se servirán los encargos en microfilm negativo, en filmofichas y en carpetas, y el meter una o dos páginas por fotograma se supondrá se deja al discernimiento del Servicio, según sea el original.

La modalidad «filmoficha», por la gran facilidad de ordenación, archivación, localización rápido de las cintas y manejo de lectura, supera con mucho a la modalidad en rollo. Se llama «filmoficha» una tira de película de cinco fotogramas y medio (en otros sistemas seis), en que caben diez páginas de libro ordinario (libro abierto, o sea, dos páginas en cada foto). El medio fotograma que se añade (uno entero en otros sistemas) se destina a «referencia», es decir, título y signatura en la filmoteca y en el centro de origen. Las filmofichas, para ofrecer tales ventajas, van alojadas en unas carpetas «Filmoteca» especialmente dispuestas para contener diez de ellas (cien páginas o cincuenta folios) en lóculos perfectamente adaptados con sus referencias numéricas y espacio preciso para títulos, páginas y toda clase de indicaciones útiles.

Fotocopias en papel.

Formato:	9 × 12 cms.:	en mate, 3	ptas.;	con brillo,	3,75	ptas.
»	13 × 18 cms.:	en mate, 4	ptas.;	con brillo,	5,25	ptas.
»	18 × 24 cms.:	en mate, 6	ptas.;	con brillo,	8,25	ptas.
»	21 × 30 cms.:	en mate, 6,25	ptas.			
»	30 × 42 cms.:	en mate, 9,25	ptas.			

N. B. Estos precios están sujetos a cierta variación, según vengan facturadas las partidas de papel.

OTRAS REVISTAS DEL PATRONATO «ALONSO DE HERRERA»

ANALES DE EDAFOLOGIA Y FISIOLOGIA VEGETAL.—Publicación del Instituto de Edafología y Fisiología Vegetal.

Continuadores de los «Anales del Instituto Español de Edafología, Ecología y Fisiología Vegetal». Abiertos a una amplia colaboración, recogen en sus páginas trabajos sobre suelos y fisiología vegetal, tanto del Instituto de origen como de otros Centros investigadores españoles y extranjeros y, asimismo, estudios de tipo informativo y bibliográfico.

Bimestral. Ejemplar, 20 pesetas. Suscripción, 100 pesetas.

ANALES DE LA ESTACION EXPERIMENTAL DE AULA DEI.—Publicación de la Estación Experimental de Aula Dei (Zaragoza).

Estos «Anales», de reciente aparición, presentan anualmente el conjunto de los trabajos y estudios, publicados o no con anterioridad, que sobre temas propios de Biología Vegetal sean llevados a cabo por los miembros de este Centro.

Precio del tomo anual, 30 pesetas.

ANALES DEL JARDIN BOTANICO DE MADRID.—Publicación del Instituto «Antonio J. de Cavanilles».

Publica trabajos y notas científicas que abarcan todos los campos de la Botánica.

Precio del tomo anual, 100 pesetas.

COLLECTANEA BOTANICA.—Publicación del Instituto Botánico de Barcelona.

Dedicado a la Botánica en general, viene a ser un órgano exterior de la actividad del Instituto Botánico de Barcelona, elemento de enlace con los demás Centros de investigación.

Publica trabajos sobre las distintas disciplinas de la Botánica: Sistemática, Florística, Fitosociología, Fisiología, Micología, Briología, Algología, etc.

Dedica una parte a reseñas bibliográficas y a la información.

Semestral. Ejemplar, 15 pesetas. Suscripción, 25 pesetas.

FARMACOGNOSIA.—Publicación del Instituto «José Celestino Mutis».

Esta revista está dedicada al estudio de los problemas de Farmacognosia, tal como se concibe en el momento presente, siendo sus finalidades: una, propiamente científica, que trata de Botánica, análisis químico, experimentación fisiológica y clínica, y otra, de orden práctico, relativa al cultivo y recolección de materias primas idóneas, no sólo para la Medicina, sino para la Dietética y la industria.

Trimestral. Ejemplar, 23 pesetas. Suscripción, 75 pesetas.

GENETICA IBERICA.—Publicación del Instituto «José Celestino Mutis».

Publica trabajos sobre Citología, Citogenética y Genética de los diversos materiales que constituyen el tema específico de investigación en los distintos Centros colaboradores de la revista, en España y Portugal, y los relacionados con la mejora de las especies vegetales que interesan en la Farmacognosia.

Trimestral. Ejemplar, 20 pesetas. Suscripción, 70 pesetas.

PRECIO: 44 PESETAS